ADMED Microbiologie

Médecin-directeur: Dr. H. H. Siegrist

Boucle de Cydalise 16
2300 La Chaux-de-Fonds

Tél. 032/967 21 01
Fax 032/968 26 43
e-mail: inm.admin@ne.ch
Centrale d'appel du ramassage
Tél. 032 967 20 33

Guide de l'utilisateur

Organisation générale

1.1. Présentation de l'Institut
Cf site Internet

1.2. Missions de l'Institut
Cf site Internet

1.3. Horaire d'ouverture

Lundi au vendredi:	08h00 à 18h00, en permanence
Samedi:	08h00 à 13h00, équipe réduite! (souvent des renseignements peuvent encore être obtenus l'après-midi)
Dimanches et jours fériés:	09h00 à 12h00, seulement deux laborantin(e)s présent(e)s au laboratoire! (souvent des renseignements peuvent encore être obtenus après-midi).

1.4. Service de piquet
En-dehors de l'horaire d'ouverture normale et **pour les cas nécessitant un résultat en urgence,** vous pouvez atteindre par l'intermédiaire du service portier de Hôpital de La Chaux-de-Fonds, un(e) technicien(ne) qui se déplacera en Microbiologie.

NB: Il est demandé de faire appel à ce service uniquement pour les analyses dont les résultats influenceront réellement une décision thérapeutique.

Il ne sera donné aucun résultat de routine pendant cette garde, ceux-ci seront communiqués par téléphone ou fax pendant les heures d'ouverture.

1.5. Transport des prélèvements
Les prélèvements doivent, dans tous les cas, parvenir dans les meilleurs délais au laboratoire.

1.5.1. Envoi par la poste
Veiller à ce que les tubes et flacons soient bien fermés; expédier les récipients cassables dans des cartons, non dans des enveloppes.

Nous nous permettons de rappeler que la responsabilité pour tout dommage causé par ses envois incombe à l'expéditeur (prescriptions d'exécution de la loi sur le service postal). Le matériel d'emballage est mis à disposition sur demande (voir Ch. 3.1. et 3.2.).

Si l'acheminement n'est pas garanti pour le lendemain veuillez solliciter notre service de ramassage.

1.5.2. Ramassage par le service transport d'ADMED
Une collecte des prélèvements est effectuée par nos transporteurs en collaboration avec le

Service Régional Neuchâtelois et Jurassien de Transfusion Sanguine (SRNJTS).

Les jours ouvrables elle dessert la région de La Chaux-de-Fonds et du Locle, le Val-de-Ruz, le Vallon de St-Imier, Saignelégier et ses environs, le Val-de-Travers, la région entre St-Aubin et Peseux, le Littoral neuchâtelois ainsi que la ville de Neuchâtel.

Veuillez demander par téléphone au no 032 967 20 33 (Central de ramassage), le passage de notre transporteur

Les dimanches et jours fériés, c'est un service de taxi qui assure le transport du matériel, une fois le matin, vers 08h00 au Locle; 09h00 à Neuchâtel; 09h45 à La Chaux-de-Fonds.

1.5.3. Hôpital de La Chaux-de-Fonds

Il existe un "poste central", situé au 7e étage de l'hôpital, où le matériel peut être déposé et où il sera collecté plusieurs fois par jour par le personnel de la Microbiologie (8h00, 10h30, 14h30, 16h30).

Etuve et réfrigérateur sont à disposition, ainsi qu'une réserve de matériel pour les prélèvements (cf. Annexe 2)

1.5.4. Apporter directement en Microbiologie:

- Tous les prélèvements "urgents", ou précieux
- Tous les prélèvements pour culture de gonocoques, mycoplasmes, virus
- Biopsies gastriques pour la recherche de *Helicobacter pylori*
- Bile, liquide duodénal pour recherche de *Giardia lamblia*
- Selles fraîches pour recherche de formes végétatives de *Giardia lamblia* ou d'amibes, de larves d'anguillules
- Sang pour les virémies HIV, HBV ou HCV

1.6. Communication des résultats

Des résultats (même partiels) importants sont communiqués d'abord par téléphone par fax ou par diohsimed pour les hôpitaux.

Toutefois seuls les rapports préliminaires ou finaux sont officiellement validés.

Les rapports écrits sont envoyés par la poste, même le samedi.

Les résultats pour hôpital de La Chaux-de-Fonds sont déposés au service messager et visibles sur Diohismed.

En semaine, les résultats pour les hôpitaux des Cadolles, Pourtalès, Providence, Landeyeux, St-Imier, du Locle et de Couvet sont acheminés par le transporteur, le matin ou après-midi.

1.7. Durée des analyses effectuées en Microbiologie

(à titre indicatif)

Pour les autres analyses, veuillez vous adresser à laboratoire.

*aéro. = germes aérobies; ana.= germes anaérobies; AB = antibiogramme

Analyse *	Résultat (délai)	Remarques
Examens microscopiques • Examens directs • Colorations	Dans la journée	Si mention "urgent" → résultat téléphoné dès que disponible Ex: Gram → min. 20 min. Auramine ou Ziehl → min 40 min. Methenamine-argent (Pneumocystis carinii) → min. 2 heures.
Culture négative (aéro) • frottis de gorge (angine)	1 jour	
• frottis divers	2-3 jours	
• cathéters	2 jours	
• liquides et pus ponctionnés	*5* jours	
• urine + numération	1 jour	
• uricults	2 jours	
• expectorations	1-2 jours	
• selles	2-3 jours	
• mycoplasmes	2 jours	
• levures	*5* jours	
• champignons filamenteux	14 jours	
• légionelles	14 jours	
• dermatophytes et • champignons "exotiques"	30 jours	
Culture négative (aéro + **ana)** • LCR	7 jours	
• actinomycètes	14 jours	
• hémocultures "routine"	7 jours	30 jours si "endocardite" ou brucellose"
• hémoculture "pédiatrie"	7 jours	
• hémoculture "mycoses"	14 jours	30 jours si champignons "exotiques"
Culture négative (ana) • frottis divers	2-5 jours	
• liquides et pus ponctionnés	10 jours	
• biopsies	10 jours	
• LBA	5 jours	
• *Clostridium difficile* (selles)	2-3 jours	Toxine: dans la journée (2 heures)
Culture positive + AB (aéro) • frottis de gorge (angine)	1-2 jours	Pas d'antibiogramme
• frottis divers	2-4 jours	
• cathéters	2 jours	Résultat téléphoné si +
• liquides et pus ponctionnés	2-6 jours	
• hémoculture "routine"	1-3 jours	Résultat téléphoné si + L'identification peut parfois prendre plusieurs jours (→ 3 semaines)
• hémoculture "pédiatrie"	1-3 jours	Résultat téléphoné si + L'identification peut parfois prendre plusieurs jours (→ 3 semaines)
• hémocultures "mycoses"	1-30 jours	Antifongigramme si levures
• urine + numération, uricults	1-2 jours	Antifongigramme si levures
• expectorations	2-3 jours	Antifongigramme si levures
• selles	2-3 jours	Antifongigramme si levures Résultat téléphoné si +
• mycoplasmes + numération	2 jours	Antifongigramme si levures
Culture positive (ana) • Bactériologie générale	3-12 jours	Test de sensibilité sur demande spéciale
• *Clostridium difficile* (selles) o culture	5 jours	

Analyse *	Résultat (délai)	Remarques
o toxine	2 heures	Résultat téléphoné si +
Champignons (identification) • levures	1-3 jours	après isolement.
• moisissures et dermatophytes	1 jour à 4 semaines	après isolement, selon l'espèce et la vitesse de maturation
Mycobactéries (culture nég)	6-12 semaines	Rapport intermédiaire écrit après 6 semaines
Mycobactéries • culture positive	1-12	Résultat téléphoné si +
• identification préliminaire	*5* jours	Différenciation entre mycobactérie du complexe tuberculosis et autres (MOTT)
• identification définitive	1 jour à plusieurs mois	Selon l'espèce
• antibiogramme	5-10 jours	Seulement pour Mycobactéries du complexe tuberculosis
Diagnostic moléculaire • *Chlamydia trachomatis,* gonocoques	2x par semaine	Mardi et vendredi Résultat téléphoné si +
• virémie HIV	lx par semaine	Jeudi
• HCV qualitatif	lx tous les 15 jours	Résultat téléphoné si +
Parasitologie • selles et autres prélèvements fixés	1-2 jours	Résultat téléphoné si +
• selles et autres prélèvements frais (par ex. amibes)	Dans la journée	Résultat téléphoné si +
• malaria	Dans la journée	Résultat téléphoné si +
Divers • *Chlamydia trachomatis* par IF	1 jour	
• Sérologie	selon analyse	Voir tableau chapitre 7
• Rotavirus	Dans la journée	Résultat téléphoné si +
• RSV (détection antigénique)	1 heure	Résultat téléphoné (+ ou -)
• Légionelle (antigène urinaire)	1x par semaine	Résultat téléphoné si +
• EHEC: Toxine	1x par semaine	Résultat téléphoné si +

2. Maladies infectieuses les plus importantes et moyens de diagnostic

2.1. Système cardio-vasculaire, hématopoïétique et lymphoréticulaire

[a] Triplet flacons aéro, ana, mycosis
[b] 1 paire par le cathéter, 1 paire par périphérie

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Septicémies	Bactéries Gram + et Gram - aérobies et anaérobies	Hémocultures (2-3 paires/24h), incubation jusqu'à 7 jours
	Mycobactéries	Hémoculture (Bactec 13A
	Champignons (routine)	Hémocultures (3 triplets) [a], incubation jusqu'à 14 jours
	Champignons dimorphiques ou "exotiques" *(Histoplasma, Coccidioides,* etc.)	Hémocultures (3 triplets), incubation jusqu'à 30 jours
Endocardites	Bactéries Gram + et Gram - aérobies et anaérobies, éventuellement champignons	Hémocultures (3 paires ou plus/24h), incubation jusqu'à 30 jours
Infections associées au port de cathéters	Staphylocoques, *Candida* spp.	Hémocultures [b], culture des pointes de cathéter
Myocardites, péricardites	Staphylocoques dorés, pneumocoques, entérobactériacées, *Mycobacterium tuberculosis,* champignons	Hémocultures, cultures de ponctions, de biopsies
	Leptosires	Sérologie
	Virus	Culture virale, PCR
	Mycoplasma pneumoniae	Sérologie PCR
	Coxiella burnetti (Fièvre Q)	Sérologie
Infections systémiques	*Brucella* spp	Hémocultures (3 paires ou plus), incubation jusqu'à 30 jours Sérologie
	Salmonella Typhi, Paratyphi	Culture de selles et hémocultures Sérologie (Widal)
	Francisella, Leptospires	Sérologie
	Coxiella burnetti	Sérologie
	Mycobactérioses	Hémocultures (Bactec 13A)
	Cytomégalovirus (CMV)	Culture rapide à partir de sang (buffy coat) Culture de l'urine (nouveau-nés) Eventuellement sérologie
Syndrome de choc toxique	Staphylocoques dorés Streptocoques β-hémolytiques gr. A	Culture des sécrétions vaginales, frottis de plaie, expectorations, etc.
Lymphadénite lymphadénopathie	*Yersinia pseudotuberculosis* *Yersinia enterocolitica*	Culture de pus ou de biopsies Sérologie
	Virus d'Epstein-Barr (EBV)	Sérologie
	Cytomégalovirus (CMV)	Sérologie Culture
	HIV	Sérologie
	Herpes simplex	Culture
	Toxoplasme	Sérologie

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Maladie des griffes du chat	*Bartonella henselae*	PCR (pus, biopsies) Sérologie

2.2. Système gastro-intestinal

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Gastroentérite, entérocolite	*Salmonella* spp. *Shigella spp.* *Campylobacter jejuni / coli* *Yersinia enterocolitica* *Aeromonas* spp.	Culture des selles (routine) **Recherche de *Shigella spp.*:** envoyer plutôt un **frottis rectal** à **l'aide de l'écouvillon universel**
	Vibrio spp.	Demande spéciale
	E. coli entérohémorragique	Culture des selles + toxine (demande spéciale)
	ECEP, ECET, ECEI	Pas de recherche de routine
	Rotavirus	Recherche d'antigène dans les selles
	Adénovirus Vers et leurs oeufs Protozoaires *Giardia lamblia*	Recherche d'antigène dans les selles, Recherche microscopique dans les selles fraîches et fixées au SAF + recherche antigénique après traitement
	Anguillules (larves)	Recherche microscopique dans les selles fraîches
Colite pseudo-membraneuse	*Clostridium difficile*	Recherche de toxine et cultures des selles
Intoxications alimentaires	*Staphylocoques dorés* *Bacillus cereus*	Culture des aliments suspects
	Clostridium perfringens	Recherche de toxine (Selles)
	Clostridium botulinum	Culture de selles Toxine dans le sérum (Enfant <15 ans)
Hépatites	Hépatites A, B, C, D et E	Sérologie
	Virus-Epstein-Barr (EBV)	Sérologie
	Cytomégalovirus (CMV)	Sérologie
	Toxocara canis (larva migrans viscérale)	Sérologie
Abcès du foie et de la rate	Souvent infections mixtes: Entérobactériacées, Streptococcus du groupe *milleri,* Anaérobies	Culture du pus aspiré hémocultures
	Entamoeba histolytica	Sérologie Examen direct
Kyste du foie	Echinococcose	Sérologie Examen direct
Cholécystite, cholangite	Entérobactériacées, Entérocoques, Anaérobies	Culture de la bile hémocultures
	Fasciola hepatica (douve)	Recherche directe dans les selles ou la bile Sérologie

Clinique		Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Abcès du pancréas ou de la rate		Entérobactériacées, Staphylocoques dorés, Streptocoques, Entérocoques Anaérobies, Parasites	Culture du pus aspiré, Hémocultures Cf. chapitre 9
Péritonites	primaire	Pneumocoques, Streptocoques β-hémolytiques gr.A, Entérobactériacées	Culture de. ponctions ou de matériel opératoire
	secondaire	Souvent infections mixtes: Entérobactériacées, Entérocoques, Anaérobies	Culture du matériel opératoire
	après dialyse péritonéale	Staphylocoques, Streptocoques, Entérobactériacées *Candida spp.*	Culture du liquide, de dialyse
Abcès intra-abdominaux		Souvent infections mixtes: Entérobactériacées, *Streptococcus* du groupe *milleri,* Anaérobies	Culture du pus aspiré ou de matériel opératoire
Prurit anal		Dermatophytes, *Candida* spp.	Culture à partir de squames cutanées ou de frottis
		Oxyures *(Enterobius vermicularis)*	Scotch-test anal

2.3. Peau et tissus mous

Clinique		Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Exanthème		Dermatophytes, *Candida sp*	Culture de squames cutanées
		Borrelia burgdorferi (Lyme)	Sérologie, PCR
		Treponema pallidum (Syphilis)	Sérologie (VDRL, TPHA, FTA)
		Rickettsies	Sérologie
		Virus Epstein-Barr (EBV), Rubéole	Sérologie
		Rougeole, Oreillons, ParvovirusB19	Sérologie
		Herpes simplex	Culture
Vésicules		Herpes simplex, varicella/Zoster Coxsackie virus	Culture
Impétigo		Staphylocoques dorés, Streptocoques β-hémolytiques gr. A	Culture de frottis
Erysipèle, érysipéloïde		Streptocoques β-hémolytiques gr.A Staphylocoques dorés *Erysipelothrix rhusiopathiae*	Culture de frottis ou d'aspiration après instillation de NaCl sous-cutanée + 2 paires d'hémocultures
Folliculite, furonculose		Staphylocoques dorés	Culture du pus (ou frottis) + év. frottis de nez
Lésion de la peau et des phanères		Dermatophytes Levures	Culture squames, cheveux, ongles, poils
Plaies **Plaies profondes**		Staphylocoques dorés, Bâtonnets Gram -, Streptocoques + anaérobies	Culture de frottis ou biopsies
Morsure	chien/chat	*Pasteurella,* EF-4; DF2 Staphylocoques dorés	Culture de frottis ou biopsies
	humaine	*Eikenella corrodens* Anaérobies	
Cellulite		Streptocoques β-hémolytiques, Staphylocoques dorés	Culture de frottis ou d'aspiration après instillation de NaCl sous-cutanée

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Cellulite gangréneuse	Souvent infections mixtes aéro-anaérobies	Culture de frottis ou de pus
Gangrène gazeuse	*Clostridium* spp. Certaines Entérobactériacées, en association avec anaérobies	Culture de frottis ou de matériel opératoire Hémocultures
Mastite, abcès mammaire	Staphylocoques dorés, anaérobies	Culture du pus
Granulome	Mycobactéries (en particulier M. *marinum)*	Culture de biopsie de la peau
Ectoparasites	Poux, tiques	Identification (envoyer vivant ou dans de l'alcool à 70 %)

2.4. Voies respiratoires supérieures

Clinique		Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Sinusite	aiguë	Pneumocoques, *Haemophilus influenzae,* Streptocoques hémolytiques *Moraxella catarrhalis*	Culture des sécrétions (aspiration ou ponction)
	chronique	Anaérobies Streptocoques du groupe *milleri* *Aspergillus spp*	Culture du pus ponctionné
Pharyngite, amygdalite Angine de Plaut-Vincent Diphtérie Mononucléose infectieuse		Streptocoques β-hémolytiques des groupes A, C ou G	Culture de frottis
		Association fuso-spirillaire	Gram sur frottis
		Corynebacterium diphteriae	Culture de, frottis Recherche de toxine (chez la souche)
		Virus Epstein-Barr (EBV)	Sérologie
Coqueluche		*Bordetella pertussis*	PCR Culture du prélèvement nasopharyngé (phase catarrhale de la maladie): frottis ou aspiration en milieu de transport
Gingivite, stomatite		*Candida* spp.	Culture de frottis
		Herpes simplex	Culture
Epiglottite		*Haemophilus influenzae*	Hémocultures.

2.5. Voies respiratoires inférieures

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Bronchite aiguë	*Mycoplasma pneumoniae,* *Chlamydia pneumoniae*	Sérologie PCR
	Virus influenza et parainfluenza, Adénovirus, RSV	Sérologie Antigènes
Bronchite chronique (surinfection)	Pneumocoques, *Haemophilus influenzae,* *Moraxella catarrhalis*	Culture des expectorations ou sécrétions bronchiques aspirées
Bronchopneumonie	*Haemophilus influenzae,* Pneumocoques, Staphylocoques dorés (grippe)	Culture des expectorations, sécrétions bronchiques aspirées ou LBA

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Infections nosocomiales	Légionelles	Culture des sécrétions bronchiques aspirées ou LBA Détection antigénique dans l'urine Sérologie
	Entérobactériacées, *Pseudomonas aeruginosa,* Staphylocoques dorés, *Candida spp.*	Culture des expectorations, sécrétions bronchiques aspirées ou LBA
Pneumonie lobaire	Pneumocoques, *Haemophilus influenzae,* *Klebsiella pneumoniae*	Culture des expectorations, sécrétions bronchiques aspirées ou LBA
Pneumonie atypique	*Chlamydia pneumoniae/psittaci*	Sérologie
	Coxiella burnetti (fièvre Q)	Sérologie
	Légionelles	Culture des aspirations ou LBA Sérologie Détection antigénique dans l'urine
	Mycoplasma pneumoniae	Sérologie PCR
	Virus influenza et parainfluenza, Adénovirus RSV (Virus respiratoire syncytial)	Sérologie Antigène
Pneumonie chez immuno- déprimés (inclus SIDA)	*Nocardia* spp. *Candida* spp. *Aspergillus spp.*	Culture des expectorations, aspirations bronchiques ou LBA
	Mycobactéries	Culture des. expectorations, aspirations bronchiques ou LBA + examen direct
	Pneumocystis carinii	Coloration au methenamine-argent sur LBA
	Cytomégalovirus (CMV)	Sérologie Culture à partir des sécrétions bronchiques, LBA, biopsies pulmonaires
Pneumonie par aspiration, Abcès pulmonaire En particulier personnes âgées	Souvent infection mixte avec anaérobies, Bâtonnets Gram, - Champignons	Culture des sécrétions bronchiques recueillies par brossage protégé, LBA, Biopsies pulmonaires
Empyème pleural	Pneumocoques, Streptocoques du. groupe *milleri* Staphylocoques dorés, Anaérobies	Culture du liquide pleural
Mycobactériose, tuberculose	*Mycobacterium tuberculosis,* MOTT	Culture des expectorations, aspirations bronchiques, LBA, liquide pleural, biopsies pulmonaires + examen direct
Infiltrat pulmonaire + éosinophilie	Parasites	Cf. chapitre 9
Kyste pulmonaire	*Echinococcus* spp.	Sérologie Examen direct
Aspergillome	*Aspergillus spp.*	Culture de biopsies + Examen direct Sérologie
Mucoviscidose	*Pseudomonas aeruginosa* Staphylocoques dorés *Haemophilus influenzae* *Burkholderia cepacia*	Culture

2.6. Systèmes nerveux

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Méningite	Méningocoques Pneumocoques *Haemophilus influenzae* Streptocoques β-hémolytiques gr. B *Listeria monocytogenes*	Culture et Gram du LCR, hémocultures
	Cryptococcus neoformans	Culture du LCR + Gram Recherche antigénique (agglutination)
	Mycobacterium tuberculosis	Culture du LCR + examen direct
	Leptospires	Sérologie
	Treponema pallidum (Neuro-luès)	Sérologie dans sérum et LCR (TPHA)
	Enterovirus, Herpes simplex	PCR
Encéphalites	*Listeria monocytogenes*	Culture de LCR+ hémocultures
	Rougeole, oreillons	Sérologie
	Herpes simplex , autres virus, *Toxoplasma gondii,*	PCR du LCR
	HIV	Sérologie dans sang (et LCR)
	Virus de l'encéphalite à tiques (FSME) Rickettsies	Sérologie
	Borrelia burgdorferi (Lyme)	Sérologie + PCR
	Parasites	Cf. chapitre 9
Abcès du cerveau	Souvent infections mixtes: Streptocoques du groupe *milleri,* Staphylocoques dorés, Entérobactériacées, Anaérobies, Champignons	Culture du pus
Cysticercose cérébrale	Larve de *Taenia solium*	Sérologie
Tétanos	*Clostridium tetani*	Culture de prélèvements de plaies
Botulisme	*Clostridium botulinum*	Toxine dans le sérum

2.7. Yeux et oreilles

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Conjonctivite **Dacryocystite**	Staphylocoques, Streptocoques, Bâtonnets Gram, Haemophilus spp. Neisseria spp. Chlamydia trachomatis	Culture de frottis (avant anesthésie locale!) PCR ou Immunofluorescence directe
	+ Champignons et actinomycètes	
Kératite	Staphylocoques, Streptocoques, Bâtonnets Gram Champignons	Culture de frottis et liquide de verre de contact
	Amibes	Culture sur frottis ou verre de contact
	Herpes simplex	Culture
	Chlamydia trachomatis	PCR ou immunofluorescence directe

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Enophtalmies	Staphylocoques, Streptocoques, Bâtonnets Gram, Bacillus cereus, Anaérobies Champignons, Candida spp	Culture de prélèvements du corps vitré et de l'humeur aqueuse
Rétinite	Cytomégalovirus	Buffy coat
	Varicella zona	Sérologie
Blépharite	Staphylocoques dorés	Culture et examen directe sur frottis
	Demodex (acarien) sur les cils	Examen direct
Otite moyenne	Staphylocoques dorés Pneumocoques, Haemophilus influenzae, Streptocoques β-hémolytiques gr.A Moraxella catarrhalis	Culture de liquide aspiré

2.8. Os et articulations

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Ostéite, Ostéomyélite, Spondylodiscite	Staphylocoques dorés, Staphylocoques coagulase négative, Streptocoques, Entérobactériacées, (salmonelles) *Pseudomonas aeruginosa,* Anaérobies, *Campylobacter spp*	Culture de biopsies ou de prélèvements per-opératoires + 2 paires d'hémocultures
	Brucella spp.	Culture de biopsies + hémocultures NB: suspicion à signaler au laboratoire, car temps d'incubation plus long.
	Mycobactéries	Culture + examen direct de biopsies ou de prélèvements per-opératoires
Arthrites post/parainfectieuses (réactionnelles)	Staphylocoques dorés, Streptocoques hémolytiques, Bâtonnets Gram négatif, Gonocoques	Culture de matériel de ponction + hémocultures
	Campylobacter jejuni ou fetus Salmonelles, Yersinia spp.	Sérologie
	Borrelia burgdorferi (Staphylocoques dorés)	Sérologie, PCR de liquides de ponction
	Chlamydiae, Rubéole	Sérologie
	Parvovirus (enfants) B-19	Sérologie

2.9. Appareil uro-génital

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
Cystite, Syndrome urétral, Pyélonéphrite	Entérobactériacées (en particulier E. coli), Entérocoques, *Staphylococcus saprophyticus,* Levures	Culture et numération des germes sur urine prélevée au vol, sondée ou ponctionnée

Clinique	Principaux agents pathogènes	Diagnostic de laboratoire
	Mycobacterium tuberculosis	Culture + examen direct sur urine au vol, sondée ou ponctionnée
	Anaérobies (rares)	Seulement sur urines ponctionnées!
Urétrite	*Haemophilus spp*	Culture du frottis
	Gonocoques, *Chlamydia trachomatis*	PCR sur frottis (milieu de transport) Urine 1er jet
	Mycoplasmes génitaux	Culture du frottis et numération indicative des germes Milieu de transport spécial! Urine 1er jet - Acheminer immédiatement
Prostatite **Epididymite**	Entérobactériacées (E. coli en particulier), *Pseudomonas spp.* Entérocoques, Gonocoques	Culture des sécrétions prostatiques et de l'urine + PCR
	Chlamydia trachomatis	PCR
	Mycoplasmes génitaux	Culture du frottis et numération indicative des germes Milieu de transport spécial! Urine 1er jet - Acheminer immédiatement
Vulvo-vaginite Petites filles	*Candida spp.* Streptocoques -hémolytiques gr. A	Culture de frottis
	Trichomonas vaginalis	Examen direct (microscopie) sur écouvillon universel ou urine du premier jet. Apporter très rapidement au labo
	Herpes simplex	Culture du frottis
Vaginose (vaginite "non spécifique")	Souvent infection mixte A: Anaérobies *Mycoplasma / Ureaplasma* *Gardnerella vaginalis,* *Mobiluncus spp*	Culture de frottis Examen direct "Clue-cells"
Cervicite, **Endométrite,** **Annexite,** **Pelvipéritonite**	Entérobactériacées, Streptocoques, Mycoplasmes, Anaérobies, *Mycobacterium tuberculosis*	Culture du frottis du col ou matériel opératoire, (NB: pas de recherche d'anaérobies pour frottis de col
	Gonocoques, *Chlamydia trachomatis*	PCR sur frottis ou matériel opératoire
Lésions précancéreuses cervicales	HPV (Papillomavirus humain).	Frottis et milieu de transport spécial Cf. chapitre 8.
Infections pendant la grossesse	*Listeria monocytogenes*	hémocultures
	Streptocoques β-hémolytiques gr. B	Culture de frottis
	Haemophilus spp	Culture de frottis
	Treponema pallidum (Syphilis)	Sérologie (TPHA, FTA, VDRL)
	Rubéole, Cytomegalovirus (CMV)	Sérologie
	HIV, Hépatites B, C	Sérologie
	Toxoplasma gondii	Sérologie PCR du liquide amniotique
	Herpes simplex	Culture virale

3. Prélèvements

3.1. Indications générales

Un prélèvement correct, accompagné d'informations cliniques exhaustives, est de la plus haute importance pour le diagnostic bactériologique:

- Prélever au lieu même de l'infection suspectée ou prélever les liquides qui drainent les organes infectés.
- Envoyer une assez grande quantité de matériel.
- Prélever si possible avant de commencer un traitement antimicrobien ou interrompre celui-ci avant les prélèvements; dans tous les cas, spécifier sur la fiche de demande d'analyse le nom des antibiotiques prescrits et la durée du traitement.
- REMPLIR LES FICHES COMPLÈTEMENT ET LISIBLEMENT, SANS OUBLIER LE NOM DU MEDECIN (EV. N° DU BIP) A QUI IL FAUDRA COMMUNIQUER LES RÉSULTATS!
- Donner le plus possible de **renseignements** concernant le patient et sa maladie, y compris une éventuelle maladie sous-jacente et le status immunologique, ou des détails sur une possibilité d'exposition à un agent particulier (voyage, exposition professionnelle, etc.).
- Préciser la **nature** exacte ainsi que la **date** et **l'heure** du prélèvement et cocher les examens désirés.
- **Toujours identifier le prélèvement en inscrivant le nom du patient sur le milieu de transport.**
- Indiquer clairement par un point jaune s'il est connu que le patient est infectieux.
- **Spécifier clairement toute demande spéciale,** éventuellement prendre contact au préalable avec le laboratoire (tél. 032 967 21 01).
- Faire parvenir les échantillons le plus rapidement au laboratoire dans **son milieu de transport adéquat:** voir 3.2.
- Les tubes doivent être **bien fermés**, afin d'éviter que le contenu ne s'écoule et ne contamine les personnes chargées de son transport et de sa manipulation.
- En cas d'envoi par la poste, les tubes et bouteilles cassables doivent être expédiés dans des emballages de protection (matériel absorbant, sachets plastiques imperméables fournis par la Microbiologie) et dans des cartons.

Ne peuvent pas être pris en considération:

- tout prélèvement dont l'identification n'est pas assurée,
- tout matériel reçu pour culture dans une solution telle que formaline ou alcool,
- prélèvement précieux reçu dans un récipient non stérile, non étanche ou endommagé,
- tout matériel desséché,
- tout échantillon improprement conservé,
- tout échantillon inapproprié à l'analyse demandée.

La non-conformité fait, dans la mesure du possible, l'objet d'un contact téléphonique ou d'une remarque sur le rapport des résultats.

Conservation à la Microbiologie

- Tous les **prélèvements sont conservés** réfrigérés pendant **6 jours** suivant la réception. Les **LCR et biopsies** sont conservés à -80°C au moins **6 mois**, mais certains autres prélèvement peuvent l'être sur demande.
- Les sérums sont conservés congelés (-20°C) pendant au moins **1 an.**
- Les plasma **pour la PCR** sont conservés congelés pendant au moins **2 ans**.
- Tous les **germes cultivés sont gardés 6 jours** au frigo avec les plaques de géloses de primo-culture, pendant ce temps il est possible de demander un complément d'analyse (identification ou antibiogramme) qui n'aurait pas été fait.
- Les souches considérées comme **pathogènes** sont conservées congelées pendant **6 mois** sauf pour les urines.

3.2. Matériel de prélèvement et milieux de transport fournis par la Microbiologie (Voir planche Annexe 2)

Vérifier la date de péremption des milieux de transport avant l'emploi!
Envois réfrigérés: éviter une éventuelle détérioration de l'échantillon par congélation.

Prélèvements Germes recherchés	**Tube / Milieu cf annexe 2**	**Température de stockage**	**Précautions Mode d'emploi**	**Conservation du prélèvement**
Frottis pour recherche d'aérobies (germes peu exigeants: plaies superficielles, gorge, furoncles, etc.) Frottis pour recherche d'anaérobies	**Ecouvillon universel**	Température ambiante (TA)	Après le prélèvement, enfoncer l'écouvillon dans le milieu de transport et l'y laisser	Température ambiante (TA)
Ponctions, diverses Biopsies	**Tubes stériles de 15 ml** ou **50 ml**	TA	Ajouter quelques gouttes d'eau physiologique stérile aux biopsies	Réfrigérateur
Hémocultures	Différents flacons contenant du bouillon	TA	Voir "Hémocultures": 3.6.	35 – 37° C
LCR (Bactéries et parasites)	**Tube stérile de 15 ml**	TA	Envoyer au min. 3 ml, le plus vite possible	TA
LCR (virus et PCR)	**Tube stérile de 15 ml**	TA	Envoyer 0,5 - 3 ml selon les demandes	Réfrigérateur
Cathéter	**Tube stérile de 50 ml**	TA	Introduire le morceau de cathéter avec une pince stérile, bien revisser le bouchon	Réfrigérateur
Expectorations	**Tube stérile de 50 ml**	TA		Réfrigérateur
Selles (Bactéries)	**Tube FECON (bleu)** muni d'une cuillère	TA	Ne remplir qu'à moitié!	Réfrigérateur

Prélèvements Germes recherchés	Tube / Milieu cf annexe 2	Température de stockage	Précautions Mode d'emploi	Conservation du prélèvement
Selles (parasites)	**Tube FECON (jaune)** contenant l0 ml de **SAF + Tube FECON (bleu)** pour selles fraîches	TA	Mettre le volume d'une noisette, ne jamais remplir. Voir 9.2.	TA
Urines	**Tube stérile de 50 ml** ou **15 ml**	TA	Routine, voir 3.5.1 antigène légionelles, Mycoplasme voir 3.5.7. Mycobactéries: 1re urine du matin, voir 3.7 Chlamydia voir 8.1	Réfrigérateur
Bordetella pertussis (coqueluche), culture	Ecouvillon souple et milieu au charbon **MTC**	TA	Prélèvement nasopharyngé au cours de la phase catarrhale de la maladie. Laisser l'écouvillon dans le milieu. Prévenir rapidement notre service de transport.	TA
Bordetella pertussis (coqueluche), PCR	Etui **NPS-PCR TM**	Réfrigérateur	Voir ch. 3.5.2	Réfrigérateur
Champignons / Dermatophytes	**Tube stérile de 50 ml**	TA	Squames en provenance du bord de l'ongle Lésions et cheveux	TA
Chlamydia trachomatis Gonocoques (PCR)	**Etui AMPLICORTM**[tm] (frottis) Tube stérile *50* ml (liquides)	TA	Voir 8.1 Envoyer au labo dans un délai de 24 h.	TA
Chlamydia trachomatis (IF)	Etui BioMérieux	TA	Voir 3.5.6. Envoyer rapidement.	Réfrigérateur
Gonocoques (culture)	**Ecouvillon universel**	TA	Laisser l'écouvillon dans le milieu. Envoi par exprès.	TA
Mycoplasmes génitaux	**Bouillon BUA R1**	Réfrigérateur	Voir 3.5.7.	Réfrigérateur Envoyer le plus vite possible
Papillomavirus	**Etui DIGENE**	TA	• Frottis: laisser l'écouvillon dans le milieu • Biopsie: introduire dans le milieu de transport. Voir 8.2	TA congeler à l'INM
Virémie HIV HCV	**Tube EDTA**	TA	5-10 ml de sang, envoyer dans un délai de 6 heures Voir 8.3. et 8.4.	TA Réfrigérateur
Virus (culture + antigène)	Milieu de transport pour virus (**MTV**)	Réfrigérateur	Ecouvillon: laisser dans le milieu de transport. Ponctions et urines: mettre directement dans le milieu	Réfrigérateur
Virus: CMV (sang)	**Tube EDTA**	TA	Prendre contact avec le laboratoire pour transport rapide	TA
Virus respiratoire syncytial (RSV)	**Tube stérile**	TA	Appeler au plus vite le laboratoire pendant les heures ouvrables	Réfrigérateur max. 24h.

3.3. Microbiologie générale

3.3.1. Ponctions et liquides divers, biopsies, plaies

Aéro = germes aérobies et microaérophiles
Ana = germes anaérobies

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport (cf annexe 2)	Indications particulière du prélèvement
LCR	Culture (aéro + ana) Examen microscopique	*Cryptococcus neoformans* (culture et détection antigénique par agglutination) Mycoses	≥ 3 ml dans un tube stérile pour la routine, plus si d'autres examens	Ne pas réfrigérer **si** méningite bactérienne sont demandés. Prélever en **même temps** du sang pour **hémocultures**
		Mycobactéries	≥ 3 ml	
		Sérologie	≥ 1 ml dans un tube stérile, plus si d'autres examens sont demandés	**Prélever en même temps du sang pour l'analyse du sérum**
		PCR (virus, toxoplasmose, mycobactéries)	≥ 0.5 ml (virus) ≥ 2 ml (autres)	**Réfrigérer!**
		Parasites	> 1 ml	Voir 9.2.
Liquide de ponction Liquide pleural Liquide articulaire	Culture (aéro + ana) Examen microscopique + gonocoques	Mycobactéries Mycoses Actinomycètes	5 -10 ml dans un tube stérile	
		Parasites		Contacter INM, voir 9.2.
		+ *Legionelles* (culture)		
		+ *Brucella* spp		Incubation jusqu'à 4 semaines
Abcès, pus	Culture (aéro + ana) Examen microscopique	Mycobactéries Mycoses Actinomycètes	Matériel prélevé de préférence à la seringue, dans un tube stérile	
		Parasites		Contacter INM, voir 9.2.
Bile, liquide duodénal	Culture (aéro + ana) (y compris salmonelles) Examen Microscopique Numération des germes	Mycoses	5-10 ml dans un tube stérile (prélever par drain ou sonde, jeter les premiers ml),	
		Parasites	Ne pas réfrigérer si recherche de Giardia lamblia ou autres parasites! Voir 9.2.	
Lait maternel	Culture (aéro) Numération des germes		≥ 1 ml dans un tube stérile	
Biopsie gastrique		*Helicobacter pylori*	Ajouter quelques gouttes de NaCl 0,9% stérile	Ne pas laisser plus de 3 h à température ambiante ou plus de 5 h à 4° C.
Biopsie pulmonaire	Culture (aéro + ana) Examen microscopique	*Legionelles* *Actinomycètes* Mycobactéries	Ajouter quelques gouttes de NaCl 0,9% stérile	
		Pneumocystis carinii		Coloration au methenamine-argent

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport (cf annexe 2)	Indications particulière du prélèvement
Os, moelle, ganglions	Culture (aéro + ana) Examen microscopique	Mycobactéries Mycoses *Brucella* spp. Bartonella vert 8.0	Le plus possible dans un tube stérile avec quelques gouttes de NaCl 0,9% pour éviter dessèchement.	Ne pas mettre dans des solutions de fixation! Si suspicion d'ostéomyélite, faire aussi des hémocultures
		Parasites		Voir 9.2.
Frottis de plaies profondes, morsures, plaies opératoires, brûlures, nécroses	Culture (aéro + ana) Examen microscopique	Mycoses (voir 3.5.8.) Actinomycètes Mycobactéries	Ecouvillon universel	Nettoyer la surface de la plaie à l'alcool, aspirer le pus éventuel à la seringue ou écouvillonner la lésion en profondeur. Préciser le site de la plaie.
Frottis de peau, plaies superficielles, ulcères	Culture (aéro) Examen microscopique	Mycoses (envoyer plutôt des squames) *Corynebacterium diphteriae*	Ecouvillon universel	Préciser le site de la plaie
		Mycobactéries	Biopsies	Voir 3.7.
Vésicules	Culture (aéro) Examen microscopique		Envoyer le liquide aspiré avec une seringue ou écouvillon	
		Virologie	Milieu de transport MTV	
Cathéter veineux	Culture (aéro). Numération des germes		Tube stérile	Prélever aseptiquement et introduire dans le tube avec une pince stérile, bien revisser le bouchon.
Drains, redons	Culture (aéro + ana) Examen microscopique		Drain ou quelques ml du liquide de drainage dans un tube stérile	
Liquide de dialyse péritonéale	Culture (aéro + ana)	Mycoses	Envoyer toute la poche de dialyse ou 50 ml dans un tube stérile	

3.3.2. Prélèvements ORL, Voies respiratoires, Oeil

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport	Indications particulière du prélèvement
Frottis de gorge, pharynx (angine)	Culture (streptocoques β-hémolytiques des groupes A, C et G)	Gonocoques Culture "élargie" *Candida*	Ecouvillon universel	
		Streptocoques β-hém. Listeria		Chez les nouveaux-nés
		Virus	Milieu de transport viral MTV	
Angine de Plaut-Vincent	Gram (pas de culture)	Association fuso-spirillaire	Ecouvillon universel	
Coqueluche		*Bordetella pertussis*	Culture PCR	Aspiration et frottis nasopharyngé au cours de la phase catarrhale

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport	Indications particulière du prélèvement
				de la maladie. Faire parvenir rapidement. Voir chapitres 3.5.2. et 8.
Diphtérie	Corynebacterium diphteriae	Ecouvillon universel		Soulever le bord de la fausse membrane et écouvillonner sous celle-ci. Prélever aussi du matériel du nasopharynx.
Epiglottite	*Haemophilus influenzae*		Hémocultures	Eviter l'écouvillonnage de l'épiglotte, qui peut entraîner une obstruction respiratoire complète.
Frottis de nez		Culture (épidémiologie: portage staphylocoques dorés, MRSA, méningocoques)	Ecouvillon universel (ou Culturette®)	Culture "élargie" (y compris *Candida* spp.) pour immunodéprimés Streptocoques β-hém. du groupe B et Listeria pour nouveaux-nés
Sécrétions nasopharyngées	Culture (aéro)	Virus (RSV)	>1 ml dans un tube stérile	Détection antigénique du virus respiratoire syncitial (RSV) ainsi que pour autre virus (voir chapitre 10.)
		Bordetella pertussis	voir coqueluche	
Pus de sinus	Culture (aéro + ana) Examen microscopique	Mycoses, Leucocytes, éosinophiles (Giemsa)	Pus aspiré ou ponctionné dans un tube stérile	
Frottis d'oreille	Culture (aéro) *Candida* spp. Examen microscopique otite moyenne chronique	Mycoses Recherche d'anaérobies	Ecouvillon souple	Nettoyer l'oreille externe avec un détergent doux, prélever avec un écouvillon ou mieux par paracentèse si otite moyenne. Préciser le site du prélèvement!
Frottis d'oeil	Culture (aéro) Examen microscopique + gonocoques (par culture) chez les nouveau-nés)	Mycoses Actinomycètes	Ecouvillon universel	
		Chlamydia trachomatis	Etui AMPLICOR™ (PCR) ou Etui Chlamydia IF	Voir 8.1. Voir 3.5.6.
		Virus culture	Milieu de transport MTV	
		Mycoplasmes	Milieu de transport BUA R1	
		Amibes		voir chapitre 9.
Prélèvement intra-oculaire	+ ana + mycoses			
Frottis de	Candida spp	Culture virale	Ecouvillon universel	

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport	Indications particulière du prélèvement
bouche			Milieu de transport pour virus	Présence d'une flore normale abondante et variée d'où interprétation difficile en l'absence d'une information précise sur la clinique.
Expectorations et Aspirations bronchiques	Culture (aéro) Examen microscopique	Mycoses Actinomycètes Mycobactéries Legionella spp.	Tube stérile 50 ml	+ hémocultures si pneumonie
		Cryptococcus neoformans		Détection antigénique dans le sérum
		Mycoplasma pneumoniae (PCR) *Chlamydiae_(PCR)*		Veuillez contacter l'INM
		Parasites		Voir chapitre 9.
Ponction transtrachéale	+ ana		Tube stérile 50 ml	Si abcès ou corps étranger ou pneumonie par aspiration
LBA	Cf. expectoration + numération des germes + ana	Cf. expectoration + *Pneumocystis carinii** + *Cytomégalovirus**	Tube stérile 50 ml	* Immunodéprimés
Tubage gastrique	Mycobactéries: - culture - examen microscopique		30-50 ml/jour pendant 3 jours consécutifs, prélevé à jeun dès le réveil, dans un tube stérile. N'utiliser que des solutions de rinçage stériles!	Faire parvenir le plus rapidement possible afin d'assurer la viabilité des Mycobactéries.

3.3.3. Prélèvements uro-génitaux

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport (cf annexe 2)	Indications particulière du prélèvement
Urine	Culture (aéro) Examen microscopique Numération des germes	Légionnelles (antigène) Candida Cytomégalovirus Anaérobies Mycobactéries Parasites Mycoplasmes Chlamydiae (PCR) Gonocoque (PCR)	Environ 10-50 ml dans un tube stérile	Voir 3.5.1. pour plus d'indications Anaérobies: seulement sur urines ponctionnées
Frottis vaginal	Culture (aéro): Gardnerella vaginalis,	Strept. β-hém.gr. B* *Trichomonas*	Ecouvillon universel	*Fin de grossesse **Examen direct

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport (cf annexe 2)	Indications particulière du prélèvement
	Candida spp. Examen microscopique	*vaginalis*** Gonocoques		
Frottis vulve	Candida spp	*Trichomonas vaginalis* Herpes simplex*	Ecouvillon universel *Milieu MTV	
Frottis du col utérin	Culture (aéro): Strepto. β-hémolitique gr. B (grossesse) Gardnerella vaginalis, Candida spp. Examen microscopique		Ecouvillon universel	Si suspicion d'infection haute (endométrite, actinomycose), ne pas envoyer de frottis, mais aspirer le pus à la seringue. Voir 8.1.
		HPV	Milieu de transport spécial	Voir 8.2.
		Gonocoques ([1]) Chlamydiae ([2])	Etui AMPLICOR™ pour PCR ([1] et [2])	Voir 8.1.
		Mycoplasmes	Milieu de transport spécial	Voir 3.5.7.
Frottis urétral (femme ou homme)	Culture aérobie Examen microscopique	Gonocoques ([1]) Chlamydia([2])	Ecouvillon souple Etui AMPLICOR™ pour PCR (' et [2])	culture (l): **acheminer rapidement** Voir 8. l.
		Mycoplasmes	Milieu de transport spécial	Voir 3.5.7.
		Trichomonas vaginalis	Ecouvillon universel	
Abcès, pus (infection génitale haute)	Culture (aéro + ana) *Candida spp.* Examen microscopique	Chlamydiae ([2]) Gonocoques ([1]) Mycoplasmes	Etui AMPLICORTM pour PCR ([1] et [2]) Milieu de transport spécial	Voir 8.1. Voir 3.5.7.
Stérilet	Culture (aéro + ana) Actinomycètes *Candida spp.*		Dans un tube stérile avec quelques gouttes de NaCl 0.9% pour éviter le dessèchement.	
Liquide amniotique Placenta	Culture (aéro + ana) Strepto β-hémolytique gr. B Listeria *Candida spp.* Examen microscopique		Volume maximal dans un tube de 50 ml stérile. Frottis de la face interne ou envoyer un morceau dans un tube stérile (placenta)	Faire aussi des hémocultures en cas d'accouchement prématuré septique. Eviter la contamination vaginale.
		Mycoplasmes		Voir 3.5.7.
Liquide amniotique		*Toxoplasma gondii*	Tube stérile	cf. chapitre 8
Sperme	Culture (aéro) *Candida spp.* Numération des germes Examen microscopique		Totalité de l'éjaculat dans un tube stérile	
		Gonocoques ([1]) Chlamydiae ([2])	Natif pour PCR ([1] et [2])	
		Mycoplasmes	Milieu de transport spécial	Voir 3.5.7.

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport (cf annexe 2)	Indications particulière du prélèvement
Sécrétions prostatiques	Culture (aéro) Examen microscopique		Tube stérile	VARIANTE: Recueillir séparément, 5-10 ml de l'urine avant et post- massage prostatique (voir aussi 3.5.1.)
		Gonocoques ([1]) Chlamydiae ([2])	Natif pour PCR ([1] et [2])	
		Mycoplasme	Tube stérile	Voir 3.5.7.

3.3.4. Autres prélèvements

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport (cf annexe 2)	Indications particulière du prélèvement
Frottis "screening" néonatologie (nez, gorge, oreille, oeil, ombilic)	Culture (aéro) Strepto. β-hémol. gr. B Listeria Gonocoques Examen microscopique		Ecouvillon universel	
Frottis rectal	Culture (aéro) *Candida* spp. Examen microscopique	*Shigella* spp *Vibrio* spp Gonocoques (culture) VRE	Ecouvillon universel	Chez les immuno-déprimés description générale de la flore.
Matériel d'autopsie	Culture (aéro + ana) Examen microscopique	Mycoses Mycobactéries *Legionella spp.*	Découper stérilement des morceaux d'environ 2 cm de côté dans les organes à examiner, mettre chaque morceau SEPAREMENT dans un tube stérile.	Les prélèvements doivent être faits <u>le plus vite possible</u> après le décès. Sang cardiaque: si possible ponctionner avant l'ouverture du thorax, après désinfection de la peau à l'iode. Les prélèvements mis dans de l'alcool ou du formol **ne conviennent pas!**
		Virus	Si possible, congeler à -80° jusqu'à l'envoi (prendre contact avec l'INM)	
Epidémiologie Hygiène hospitalière	Culture qualitative et quantitative	Portage MRSA	Prendre contact avec l'INM pour déterminer quels sont les prélèvements nécessaires	

Prélèvement	Examens de routine	Sur demande	Quantité / Milieu de transport (cf annexe 2)	Indications particulière du prélèvement
Selles	Culture: *Salmonella* spp. *Shigella* spp. *Campylobacter* spp. *Yersinia enterocolitica* *Aeromonas* spp.		A partir des matières fécales émises dans un récipient propre, prélever le volume d'une noix de selles dans un tube FECON à bouchon bleu, muni d'une cuillère. 1 selle/jour, maximum 3/semaines	Mentionner si le patient a fait un séjour à l'étranger. Suspicion de shigellose ou choléra: envoyer également un frottis rectal (écouvillon universel)
		Clostridium difficile	idem ⇒ culture + recherche de toxine)	Respecter un délai de 5 jours si un 1er prélèvement est positif, avant de renvoyer des selles.
		Mycoses - *Candida* spp	Comme pour la routine	Chez patients immunodéprimés
		Vibrio cholerae / Plesiomonas	Selles + frottis rectal	
		Rotavirus	Comme pour la routine	Chez enfants ≤ 2 ans et personnes âgées
		Adénovirus	Comme pour la routine	
		EHEC, E Coli EntéroHémorragique aussi VTEC	Comme pour la routine	Selles sanguinolantes (diarrhées hémorragiques et liquides, généralement sans leucocytes).
		Mycobactéries	Comme pour la routine	Chez patients immunodéprimés
		Leucocytes Parasites	Comme pour la routine Voir 9.2	Détection de la lactoferrine
Nouveaux-nés ≤ 2 mois.	idem + description de la flore + *Clostridium* spp		Comme pour la routine	Entérocolite nécrosante
Méconium	+ *Listeria*, strepto. β-hém. gr. B		Comme pour la routine	
Intoxications alimentaires		*C. botulinum*	Selles (enfant < 15 ans) Sérum 10 ml	Prendre contact au préalable
		C. perfringens	Selles (Culture + toxine)	
		Autres	Culture des aliments	

3.4. Infections à germes anaérobies

3.4.1. Signes cliniques

- écoulement fétide,
- infection située à proximité d'une muqueuse,

- tissu nécrotique, gangrène, formation de pseudo-membranes,
- gaz dans les tissus et les écoulements,
- infections accompagnant une tumeur maligne ou un autre processus entraînant une destruction tissulaire,
- traitement aux aminoglycosides ou quinolones, sans couverture contre les anaérobies,
- thrombophlébite septique,
- infection après morsure, humaine ou animale,
- présence de "granules de soufre" dans les écoulements (actinomycose),
- notion d'abcès.

3.4.2. Prélèvements pour la recherche des anaérobies

Localisation	Acceptables	Non acceptables
Tête et cou	Aspiration d'abcès avec seringue et aiguille Biopsies Frottis per op. (écouvillon universel)	Frottis de gorge ou nasopharyngé Frottis de gencives Frottis superficiels
Poumons	Aspiration transtrachéale Ponctions Biopsies LBA Brossages bronchiques protégés Frottis per op. (écouvillon universel) si aspiration impossible	Expectorations Aspirations endotrachéales Prélèvements de bronchoscopie sans précautions spéciales
Système nerveux central	Aspiration d'abcès avec seringue et aiguille Biopsies Frottis per op. (écouvillon universel) si aspiration impossible	Frottis sans milieu de transport anaérobies.
Abdomen	Liquide péritonéal ponctionné Aspiration d'abcès avec seringue et aiguille Biopsies Frottis per op. (écouvillon universel) si aspiration impossible	Frottis sans milieu de transport anaérobies.
Intestin	Selles: seulement pour la recherche de *Clostridium difficile, Clostridium botulinum ou Clostridium perfringens* (chez nouveau-nés)	Frottis rectaux
Urine	Ponction sus-pubienne	Au vol Sondage
Tractus génital féminin	Ponction du cul-de-sac de Douglas Aspiration endométriale protégée Aspiration d'abcès avec seringue et aiguille Glandes de Bartholin Biopsies Frottis per op. (écouvillon universel) Stérilets pour recherche *d'Actinomyces* spp	Frottis de vulve Frottis vaginaux Frottis de cervix Lochies
Os et articulations	Aspiration avec seringue et aiguille Biopsies Frottis per op. (écouvillon universel)	Frottis superficiels
Tissus mous	Aspiration avec seringue et aiguille Biopsies Plaies, ulcères: aspiration profonde à travers la peau décontaminée	Frottis superficiels de la peau ou des bords d'une plaie

Localisation	Acceptables	Non acceptables

3.4.3. Transport

- **Grands volumes** de pus, de liquides de ponction et grands morceaux de tissus:
  dans un tube stérile (les bactéries anaérobies y restent vivantes pendant 2-3 heures à température ambiante).

- **Frottis à l'aide de l'écouvillon universel**
  les frottis sont les prélèvements les moins indiqués pour la recherche d'anaérobies toutefois ils peuvent être gardés à température ambiante durant la nuit.

- **Biopsies, petits volumes de matériels aspirés:**
  dans un tube stérile de 15ml avec quelques gouttes d'eau physiologique stérile.

Apporter toujours ces prélèvements au laboratoire dans les plus brefs délais.

3.5. Précautions particulières pour certaines analyses

3.5.1. Urines

(Culture de routine)

L'urètre est en général colonisé par la flore de la peau (staphylocoques coagulase négative, Corynebacterium spp.) et par des germes de la flore fécale ou vaginale (Enterococcus spp. Lactobacillus spp.). Par ailleurs, l'urine est un bon milieu de culture pour de nombreuses espèces bactériennes. Il faut donc éviter la présence de cette flore saprophyte ou contaminante dans les prélèvements destinés à la culture. Si une mise en culture n'est pas possible dans l'heure qui suit le prélèvement, **réfrigérer l'urine** pour empêcher une prolifération des germes. Conservation au **réfrigérateur ≤ 24h.** ou à **température ambiante: ≤ 2h.**

Le mode de prélèvement le plus utilisé est celui dit du "milieu du jet" (mi-jet):

si le prélèvement est confié au patient lui-même, il faut lui donner des **instructions précises** (disponibles au laboratoire sur demande):

Après lavage hygiénique des mains:

- Faire une toilette soigneuse de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme, puis rincer abondamment.

- Eliminer le 1er jet d'urine et recueillir dans le tube stérile de 50 ml au moins 20 ml d'urine (= milieu du jet).

- Fermer hermétiquement le tube, l'identifier très précisément (par ex. étiquette du service) et le faire parvenir rapidement ou le laisser à 4 - 8° la nuit.

(Analyses particulières)

Mycobactéries:	voir chapitre 3.7.
Parasites:	voir chapitre 9.
Chlamydia/Gonocoques:	voir chapitre 8.
CMV:	voir chapitre 10.

Mycoplasmes: voir chapitre 3.5.7.
Légionelles: voir chapitre 3.5.31

Les **sondages vésicaux** devraient être réservés aux patients alités, inconscients, etc. Il y a un danger d'infection post-sondage par introduction de germes de l'urètre dans la vessie et le risque de contamination de l'urine n'est pas éliminé.
Les urines recueillies par sonde à demeure ne conviennent pas pour la culture.

La **ponction sus-pubienne,** effectuée dans de parfaites conditions d'asepsie, est la meilleure méthode pour trouver les bactéries qui sont véritablement présentes dans la vessie. Tout micro-organisme isolé sera considéré comme significatif. Seul prélèvement valable pour la recherche d'anaérobies.

NB: Ne jamais envoyer une partie des urines de 24h; à température ambiante les germes (contaminants et pathogènes) s'y multiplient rapidement.

Suspicion de prostatite
Prélèvement en 2 étapes:
1er échantillon: urine mi-jet suivi d'un massage prostatique
2e échantillon: 10 ml d'urine du 1er jet après massage.

Les 2 prélèvements doivent parvenir très rapidement au laboratoire pour permettre une analyse quantitative. Ne pas ensemencer des uricults qui sont trop peu sensibles. En cas de prostatite, il y a plus de bactéries dans le 2ème échantillon que dans le 1er. Méthode valable uniquement si la vessie n'est pas infectée elle aussi.

3.5.2. Coqueluche

Trois possibilités de diagnostic sont à disposition pour la mise en évidence d'une coqueluche *(Bordetella pertussis)*:

- La mise en culture des sécrétions ou du frottis nasopharyngés postérieurs nécessite une rapidité d'exécution pas toujours possible. Le prélèvement doit nous parvenir **dans les 2 heures** à température ambiante. Un milieu de transport au charbon (disponible au laboratoire) permet une conservation plus sûre du prélèvement sur écouvillon. Toutefois la mise en évidence de *Bordetella pertussis* n'est réelle que dans la phase catarrhale.

- La PCR se fait à partir des sécrétions nasopharyngées et du frottis sur écouvillon spécifique (inclus avec le milieu de transport). Le prélèvement est ensuite mis dans le milieu fourni par la Microbiologie (NPS-PCR TM) en y laissant le frottis. Cette méthode a l'avantage de détecter une partie de l'ADN du pathogène même s'il n'est plus viable. Sa sensibilité reste élevée même après la phase aiguë. Un résultat positif disponible après 3-4 jours ouvrables est rapidement communiqué par téléphone.

- La sérologie permet de documenter une coqueluche notamment chez des patients présentant une clinique moins typique (ex. adultes). Elle est positive 2-3 semaines après la phase aiguë.

3.5.3. Légionelles

Le diagnostic de la pneumonie à légionelles est devenu plus complet depuis l'utilisation de la mise en évidence de l'antigène dans les urines. Voici les méthodes de diagnostic disponibles:

- La culture de légionelles à partir des expectorations profondes des aspirations ou des LBA permet l'isolation et la détermination de l'espèce ainsi que du sérotype et de documenter par comparaison des souches un éventuel foyer ou source de contamination. Sa sensibilité n'est pas grande.

- La PCR est possible, mais ne sera pas proposée en première intention.

- La détection de l'antigène de *Legionella pneumophila* dans les urines offre une sensibilité et

spécificité assez élevées pour être reconnue comme "gold standard". Bien que théoriquement le test ne reconnaisse les antigènes que de tous sérotypes confondus, des études montrent que sa sensibilité varie de 80 à 95 % selon le sérotype responsable de la leginellose. Le test est exécuté une fois par semaine mais peut être demandé en urgence les jours d'ouvrables uniquement.

- La sérologie nécessite 2 prises de sang (phase aiguë et 3 à 4 semaines plus tard) pour documenter une atteinte à *Legionella pneumophila* des groupes 1 à 6 (pathogènes les plus courants).

3.5.4. *E. coli* pathogènes (EHEC, VTEC, ETEC, EPEC, EIEC)

Ces dénominations englobent 2 groupes de pathogènes:

1. les agents classiques de diarrhées acquises dans les zones tropicales et subtropicales (ETEC, EPEC EIEC).

2. les agents communs dans les zones tempérées (EHEC ou VTEC dont le O157).

Alors que pour le premier groupe les méthodes de diagnostic sont restreintes, c'est le deuxième groupe qui fera l'objet d'une recherche plus complète pour son importance lors d'épidémies (O157) ou plus sporadiquement lors d'atteintes sévères chez les enfants principalement (syndrome urémique hémolytique).

Sur demande et principalement sur les selles liquides, hémorragiques et sans leucocytes il est possible d'utiliser les méthodes diagnostiques suivantes:

- Une détection de la toxine (similaire à la Vérotoxine) dans les selles après enrichissement en bouillon.

- Culture de selles sur une plaque sélective permettant de mettre en évidence les *E.coli* O157 qui agglutineront avec un latex spécifique.

- Confirmation des résultats positifs par le laboratoire de référence (CNTIA) grâce à la PCR et des méthodes d'hybridation d'ADN.

3.5.5. *Bartonella henselae* (Maladie des griffes du chat)

Zoonose relativement fréquente dans les régions de campagne se présentant par des symptômes peu spécifiques (état grippal, fièvre, adénopathie) mais qui attire l'attention lors de complications douloureuses comme l'adénopathie persistante. La présence de chat (âge < l an) ou une griffure ou site d'inoculation doivent rapidement faire penser à la maladie des griffes du chat. Les méthodes de diagnostic disponibles sont les suivantes

- La sérologie IgG et IgM a une sensibilité de 92 % et une spécificité de 88 %.

- La PCR ne se fait pas sur le sang mais bien sur le pus du ganglion abcédé ou encore mieux sur le ganglion lui-même.

La possibilité de détecter par la même PCR une bactérie proche Bartonella quintana à partir de biopsie de tissus doit être discutée. Bien que présentant une autre clinique, l'agent de la "Fièvre des tranchées" peu présenter des similitudes mais atteint plus particulièrement les immunodéprimés et les sans-abris.

3.5.6. *Chlamydia trachomatis* par IF (immunofluorescence)

Etuis de prélèvements disponibles à l'INM, contenant 2 écouvillons stériles en Dacron, une lame et un tube d'acétone (fixateur).

Hommes: ne pas uriner durant l'heure précédant le prélèvement.
Introduire l'écouvillon à tige métallique d'environ 2-4 cm dans l'urètre. Tourner 5-10 sec. en frottant

soigneusement pour arracher des cellules.

Femmes: placer un spéculum. Nettoyer le col utérin avec un écouvillon stérile ou une gaze. Introduire l'écouvillon à tige plastique dans le canal endocervical d'environ 1 cm. en frottant soigneusement pour arracher des cellules. Retirer l'écouvillon en évitant de toucher les parois vaginales.

L'urètre féminin peut aussi être infecté, faire donc un 2e prélèvement selon la technique prévue pour les hommes.

Prélèvements oculaires: appliquer un anesthésique local. Eliminer tout exsudat purulent avec un tampon stérile. Utiliser un écouvillon à tige métallique pour chaque oeil séparément. Frotter soigneusement la surface interne des 2 paupières pour arracher des cellules.

Pneumopathie du nouveau-né: veuillez contacter l'INM.

Confection du frottis (lame)

- Eliminer les prélèvements purulents ou hémorragiques
- Réaliser le frottis IMMÉDIATEMENT après le prélèvement
- Rouler soigneusement la totalité de l'écouvillon sur toute la surface du cercle marqué sur la lame. Laisser sécher complètement à l'air ambiant.
- Vérifier la présence de l'étalement
- Fixer avec l'acétone, laisser évaporer
- Envoyer la lame dans son étui rapidement au laboratoire
- Si un envoi immédiat n'est pas possible, conserver la lame à 2- 8°C, au maximum 7 jours
- Au-delà il faut congeler à 20°C

Remarque: un prélèvement ne montrant pas de *Chlamydiae* et contenant moins de 50 cellules épithéliales, sera classé interprétable.

Voir aussi ***Chlamydia trachomatis*** par PCR au chapitre 8.

3.5.7. Mycoplasmes génitaux

Effectuer le prélèvement avant toute antibiothérapie.

Les mycoplasmes ayant une grande affinité pour les membranes des cellules de muqueuses, il est important de recueillir le plus grand nombre possible de cellules.

- **Prélèvement vaginal:** nettoyer minutieusement l'exocol et éliminer la glaire cervicale (sans utiliser d'antiseptique local) puis écouvillonner l'endocol. Placer l'écouvillon dans le milieu de transport BUA R1 et l'y laisser.
- **Prélèvement urétral:** nettoyer le méat et prélever par écouvillonnage ou grattage de la muqueuse (au moins 3 heures après la dernière miction). Placer l'écouvillon dans le milieu de transport BUA R1 et l'y laisser.
- **Urine:** prélever le premier jet (env. 10 ml) dans un tube stérile, et faire parvenir immédiatement (dans les 30 minutes). Veuillez avertir le laboratoire.
- **Sperme:** dans un tube stérile, envoyer immédiatement.

BUA R[1] **=** Bouillon urée-arginine (liquide de reprise)

3.5.8. Mycoses

La recherche de levures se fait systématiquement pour les prélèvements suivants:

- prélèvements ORL
- prélèvements génitaux
- prélèvements provenant de patients immunodéprimés
- matériel d'autopsie

Pour les autres prélèvements, les champignons sont recherchés sur demande spéciale.

Au préalable, pour les recherches de champignons, nous faisons une **préparation directe au Blankophore,** qui indique la présence ou l'absence d'éléments mycéliens au microscope. Ce résultat fait l'objet d'un rapport intermédiaire.

Recherche de *Cryptococcus neoformans*

- Dans les LCR: par agglutination (titration si +) et culture.
- Dans le sérum: par agglutination uniquement (titration si +).
- Dans le sang: par hémoculture.
- Autres prélèvements: par culture.

Prélèvements

Pour éviter des contaminations bactériennes:

1) nettoyage mécanique pour enlever les dépôts indésirables (croûtes, peau morte).
2) nettoyage à l'alcool 70%.

Il est souvent nécessaire de faire plusieurs prélèvements du même site.

Prélèvement	Méthode, précautions
Biopsies (mycose sous-cutané ou généralisée)	Excision aseptique du centre et de la périphérie de la lésion: envoi dans un **tube stérile.**
Cheveux, poils	Raccourcir; avec une pince à épiler, en arracher environ 30, au bord de la lésion. Envoyer dans un **tube stérile.** Si suspicion de *Piedra nigra ou alba* (présence de petites boules noires ou blanchâtres sur le cheveu), couper les parties du cheveu atteint avec des ciseaux.
Ongles, onyxis	Bien nettoyer avant de prélever environ 30 petits copeaux avec un scalpel, à la limite du tissu malade et du tissu sain. Envoyer dans un **tube stérile.**
Périonyxis	**Frottis** du bord proximal de l'ongle avec un écouvillon.
Peau	Avec un scalpel, prélever le plus possible de squames au bord de la lésion, en grattant de la lésion vers la peau saine. Envoyer dans un **tube stérile.**
Muqueuses	Frottis ou biopsie.
Pityriasis versicolor	Grattage du pourtour de la lésion, puis application d'un morceau de ruban adhésif transparent; coller ce ruban sur une lame en l'appliquant bien et en évitant les bulles. **(Scotch-test).**
LCR	Au moins 2 ml en **tube stérile.**
Sang	8-10 ml de sang dans un flacon Bactec Mycosis" (3 triplets/24h) Voir chapitre

Prélèvement	Méthode, précautions
	3.6.1.1.
Oeil - cornée	Frottis cornéen, éventuellement biopsie.
Voies lacrymales	**Frottis**
Tractus respiratoire	Expectorations (spontanées ou provoquées). Matériel de bronchoscopie ou aspiration transtrachéale. Liquide pleural ou biopsie de plèvre.
Urine	Urine au vol, sondée ou ponctionnée.

Sont inadéquats les prélèvements suivants:
- urines de 24h
- selles de patients immunocompétents
- matériel fixé au formol ou autre.

Transport:
Le matériel doit parvenir au laboratoire dans un délai de 24 h après le prélèvement.
- urine: délai de 2h, à température ambiante ou < 24 h réfrigérer à 4-8°C.

Antifongigramme: voir chapitre ***6.5.***

3.6. Hémocultures

La Microbiololgie fournit aux médecins et aux hôpitaux un système d'hémocultures comportant différents flacons de bouillon:

Routine
- Flacon **"Bactec Aerobic"** (bouchon bleu/capsule grise, étiquette grise), contenant 25 ml de bouillon enrichi de soja-caséine digérés et de C02.

- Flacon **"Bactec Anaerobic"** (bouchon rose/capsule violette, étiquette violette), contenant 40 ml de bouillon pré-réduit, enrichi de soja-caséine digérés, de N2 et de C02.

Il est recommandé de **prélever** pour chaque patient une **série de ≥ 2 paires** de flacons pour une période de 24h, numérotées 1 et 2, en l'espace de 15 minutes à 2 heures. La **sensibilité de 2 paires** d'hémoculture chez des **patients non traités** aux antibiotiques est d'**environ 95%** alors qu'elle n'est que de 80% avec une seule paire. Dans le cas de patients déjà traités, seule la prise de 3 paires garantit une sensibilité de 90%.

Les 2 flacons doivent être ensemencés avec du sang **prélevé au même moment** et envoyés ensemble au laboratoire. Inoculer **8-10 ml de sang** dans chaque flacon.
NB: Veuillez nous indiquer le volume de sang inoculé s'il est inférieur.
Incubation: jusqu'à 7 jours.

Pédiatrie (routine):
Flacons **"Bactec Péds"** (bouchon gris clair/capsule rose, étiquette rose), contenant 40 ml de bouillon de culture pour germes aérobies. Pour la recherche d'anaérobies, veuillez prendre contact avec le laboratoire. **Inoculer 1-3 ml de sang.**
NB: Veuillez nous indiquer le volume de sang inoculé s'il est inférieur.

(En cas de septicémie ou de bactériémie chez l'enfant, la concentration de bactéries dans le sang circulant est plus forte que chez l'adulte).
Incubation: jusqu'à 7 jours.

Important: ne rien écrire ou coller sur le code à barres des flacons!

3.6.1. Demandes spéciales

3.6.1.1. Champignons

Les fongémies sont **difficiles à détecter,** il n'existe pas de méthode "idéale" bien établie pour la recherche de champignons dans le sang, mais l'hémoculture constitue un des examen-clés du diagnostic

des mycoses invasives. Des cultures négatives ne peuvent donc pas exclure une mycose.

Responsables d'infections nosocomiales et communautaires, les champignons jouent un rôle grandissant chez les immunodéprimés, les porteurs de cathéters veineux centraux ou lors d'utilisation d'antibiotiques à large spectre.

Il est recommandé de prélever plusieurs séries d'hémocultures (3 triplets **aero/ana/mycosis/24h),** et à intervalle journalier ensemencer le milieu "**Bactec Mycosis"** (bouchon gris foncé/capsule verte, étiquette verte), contenant 40 ml de bouillon. Inoculer 8-10 ml de sang.

Les ***Candida* et autres levures** poussent assez rapidement en aérobiose, les cultures sont incubées automatiquement pendant 14 jours.

=> Cocher sur la fiche de demande d'analyse la position: "Champignons (Mycosis)".

Recherche de champignons exotiques (Histoplasma, Blastomyces, etc.).

Entourer en rouge sur la fiche de demande d'analyse la position "Champignons (Mycosis)", en ajoutant "dimorphiques" ou "exotiques".

Les flacons seront incubés pendant **30 jours**.

3.6.1.2. Endocardites

Les endocardites infectieuses sont le plus souvent provoquées par des streptocoques, en particulier des **streptocoques verdissants** ou des **entérocoques** (groupe D), mais d'autres organismes peuvent être en cause (par ex: **Staphylocoques, HACEK , …**).

La bactériémie est en général continue, car la décharge de bactéries dans le sang à partir du foyer infectieux est assez constante.

Cette dernière est en général plutôt basse: 0,1-30 UFC/ml.

L'intervalle entre les prises de sang a donc moins d'importance; on prélève habituellement **3 paires d'hémocultures par 24h.**

Du fait du petit nombre de bactéries dans le sang et parce que certains micro-organismes responsables d'endocardites poussent très lentement, **il est souvent nécessaire d'incuber les hémocultures plus longtemps (30 jours).**

=> Cocher sur la fiche de demande d'analyse la position: "Endocardite".

3.6.1.3. Mycobactéries (BK et MOTT):

Flacons "Bactec 13A" (Middlebrook 7H13)

Ce milieu contient du carbone radioactif C14; il doit être conservé avec des précautions particulières. Il est fourni au fur et à mesure des demandes.

Prélever **5 ml de sang** avec les **précautions d'asepsie** d'usage.

En cas d'impossibilité d'inoculer les flacons directement, le sang doit être prélevé sur anticoagulant (SPS) et envoyé rapidement au laboratoire.

Incubation: jusqu'à 12 semaines.

3.6.1.4. Brucellose

La bactériémie est en général continue, mais limitée aux toutes premières semaines de la maladie. Il est recommandé de faire des prélèvements sur plusieurs **jours (3 paires d'hémocultures/24h).**

Les brucelles poussent lentement et le nombre d'organismes présents dans le sang est faible. Il est donc nécessaire **d'incuber les hémocultures plus longtemps (30 jours).** Toutefois la majorité des hémocultures sont positives après **3-5** jours.

=> Cocher sur la fiche de demande d'analyse la position: "Brucellose".

3.6.1.5. Infection sur cathéter

Prélever 1 paire d'hémoculture par le cathéter + 1 paire en périphérie (sang veineux) afin de **déterminer le site infecté.** Inoculer **8-10 ml de sang** dans chaque flacon. Ils seront envoyés ensemble au laboratoire après avoir soigneusement **indiqué les sites et l'heure de prélèvement.**

3.6.2. Tableau récapitulatif

Milieux à ensemencer	Volume de sang	Nombre de prélèvements	Temps d'incubation
Routine **"Bactec Aerobic"** (bouchon bleu/ capsule grise, étiquette grise) **"Bactec Anaerobic"** (bouchon rose/ capsule violette, étiquette violette)	8- 10 ml/ flacon	2-3 paires / 24h	7 jours
Pédiatrie			
"Bactec Péds" (bouchon gris clair/capsule rose, étiquette rose)	1-3 ml / flacon	1-3 flacons / 24h	7 jours
Champignons			
"Bactec Mycosis" + paire de routine (bouchon gris foncé / capsule verte, étiquette verte)	8-10 ml / flacon	3 triplets / 24h, plusieurs jours de suite	14 jours
Demande spéciale: Champignons dimorphiques ou "exotiques":	idem	idem	30 jours
Mycobactéries			
"Bactec 13A" **(Middlebrook 7H13)**	5 ml / flacon	1-3 flacons / 24h	6-12 semaines
Endocardite, brucellose			
"Bactec Aerobic" (bouchon bleu/ capsule grise, étiquette grise) **"Bactec Anaerobic"** (bouchon rose / capsule violette, étiquette)	8-10 ml / flacon	3 paires / 24h, plusieurs jours de suite	30 jours

3.6.3. Prise de sang pour hémoculture

Procédure

- A faire de préférence **avant toute antibiothérapie** ou du moins juste avant une nouvelle

administration; lors de l'ascension de la température (fièvre) ou au moment des frissons si la fièvre est discontinue, (si la fièvre est continue, le moment importe peu).

- Prélèvements de **2 à 3 x 20 ml / 24h** sont suffisants, à intervalles de 15 min. à 2 h. Changer à chaque fois de bras (de veine).

- **Se désinfecter** les mains, mettre des gants.

- **Désinfecter méticuleusement la peau du patient** (2 x alcool 70% et 1 x avec un produit iodé), ne plus tâter la veine après la désinfection.

- **Désinfecter à l'alcool 70 % les bouchons** des bouteilles d'hémocultures.

- Changer à chaque fois l'aiguille pour introduire le sang dans chaque bouteille, par piqûre à travers le bouchon. Ne pas laisser entrer d'air, ou utiliser le système Vacutainer®.

- Les bouteilles "aérobie" et "anaérobie" ou encore "mycosis" doivent être ensemencées avec du sang prélevé au même moment et envoyées ensemble au laboratoire.

- Nettoyer les bouchons.

- Inverser plusieurs fois les bouteilles pour **mélanger le contenu** et empêcher la coagulation.

- Inscrire le **nom** du patient sur les flacons avec **l'heure et la date** du prélèvement.

- **Ne rien écrire ou coller sur le code à barres des flacons!**

- Transporter les bouteilles **directement à l'INM** ou les incuber à l'étuve à 37°C durant la nuit mais ne pas garder les flacons ensemencés plus longtemps au service ou au laboratoire.

Remarque: La dilution du sang dans le bouillon empêche l'activité bactéricide normale du sang et dilue les éventuels résidus d'antibiotiques qu'il pourrait contenir. En outre le SPS (polyanethol sulfonate de sodium) contenu dans le flacon n'agit pas seulement comme anticoagulant, mais aussi comme agent anticomplémentaire et antiphagocytaire; il inactive par ailleurs la streptomycine, la polymyxine B, la kanamycine et la gentamicine.

La résine inactive la plupart des antibiotiques.

3.7. Mycobactéries

3.7.1. Prélèvements

Règle générale: pour le diagnostic des mycobactéries, il est recommandé d'envoyer autant de matériel que possible!

Prélèvement	Collection	Volume
Expectorations	1re expectoration du matin 3-5 jours consécutifs	3 - 10 ml/jour pendant
Sécrétions bronchiques, LBA, brossages	Aspiration des sécrétions	Variable
Suc gastrique	Prélevé à jeun dès le réveil (contenant les mucosités bronchiques dégluties pendant le sommeil). N'utiliser que des solutions de rinçage stériles! **Faire parvenir rapidement!** Prélèvement de choix chez les enfants!	30-50 ml/jour pendant 3 jours consécutifs

Prélèvement	Collection	Volume
Urine	1ère urine du matin	30-50 ml/jour pendant 3 jours consécutifs
LCR	Natif en tube stérile	3 ml au minimum
Liquide pleural **Liquide péricardique** **Liquide péritonéal** **Liquide synovial**	Natif en tube stérile	Le plus possible
Sang	Demander des flacons 13A, ensemencer directement au lit du patient en prenant les précautions d'asepsie usuelles pour les hémocultures, voir 3.6. **Ne pas utiliser d'iode sur les flacons**.	*5* ml 5 ml
Pus	Natif Si très petite quantité: ajouter quelques gouttes de H_2O dist. stérile	Le plus possible
Biopsies, tissus	Tube stérile avec quelques gouttes de NaCl 0,9% stérile	Variable
Moelle osseuse	Tube stérile	7-10 ml
Sang menstruel	Tube stérile, diluer avec NaCl 0,9% stérile (1:1)	Quelques millilitres
Sperme	Natif	Variable
Selles	Tube stérile FECON à bouchon bleu. Indication: immunodéprimés	Remplir à moitié
Ecouvillons	Pas recommandés! Seulement acceptables si le matériel ne peut pas être prélevé d'une autre façon	

3.7.2. Méthodes de diagnostic

La recherche du *Mycobacterium tuberculosis* (BK ou bacille de Koch) ainsi que des autres mycobactéries (MOTT ou Mycobacteria other than tuberculosis) se fait:

- **Par examen direct:** coloration à **l'auramine** (fluorescence) ou **Ziehl-Neelsen:**
  on détecte les **Bacilles Acido-Alcoolo Résistants** ou **BAAR.**

  NB: cette acido-alcoolo résistance se réfère uniquement à des propriétés tinctoriales.
  La **microscopie** permet un diagnostic rapide si elle est positive, mais la sensibilité globale de la méthode n'est que d'environ 60%. Il faut au moins 10^4 - 10^5 germes/ml pour avoir une bonne probabilité que la lame soit positive.
  La présence de BAAR à l'examen direct ne permet pas de donner l'identité de la bactérie. Des micro-organismes autres que les Mycobactéries peuvent être partiellement acido-alcoolo résistants. Par ex: *Rhodococcus* spp., *Nocardia* spp., *Legionella micdadei.*
  Certaines Mycobactéries à croissance rapide ont une faculté variable à retenir les colorants acido-alcoolo résistants; ceci arrive particulièrement avec *M. fortuitum*.

Concentration en BAAR /ml	Probabilité de préparation + (%)	Résultat probable	
<1000	10	Pas de BAAR observés	
1000 à 5000	50	1 à 2 BAAR pour 300 champs: douteux (prélèvement à répéter)	±
5000 à 10000	50	1 à 10 BAAR pour 100 champs	+
environ 50000	90	1 à 10 BAAR pour 10 champs	++
environ 100000	96	1 à 10 BAAR par champ	+++
> 500000	99	> 10 BAAR par champ	++++

Attention: La fixation à la flamme ne tue pas toutes les mycobactéries éventuellement présentes.

Si on envoie des lames, préférer la fixation au méthanol. Bien les envelopper pour éviter les contaminations.

- Par **culture en milieu d'enrichissement liquide: Bactec 12B (Middlebrook 7H12)**, marqué au ^{14}C (1 μCi/ml). Le substrat radioactif est utilisé par les mycobactéries et, au cours du métabolisme, du $^{14}CO_2$ est formé et libéré dans l'atmosphère au-dessus du milieu, dans la bouteille. Ce $^{14}CO_2$ est détecté par l'appareil BACTEC et sa radioactivité est mesurée quantitativement; elle est directement proportionnelle à la croissance (activité cellulaire) dans la bouteille. **Bactec 13A (Middlebrook 7H13) pour hémocultures**, contenant un anticoagulant et du ^{14}C (carbone radioactif) dans un substrat. Le milieu est hypotonique, ce qui entraîne une lyse automatique des cellules sanguines. Une pression négative dans la bouteille permet une aspiration du sang lors du prélèvement. Ce milieu est stocké à la Microbiologie à cause de sa radioactivité et fourni au fur et à mesure des demandes aux médecins et dans les services hospitaliers pour l'ensemencement direct "au lit du malade".

- Par culture sur milieux solides: Loewenstein-Jensen (milieu traditionnel aux oeufs coagulés) et Middlebrook 7H11 (milieu gélosé).

- Par diagnostic moléculaire, cf. chapitre 8

Plusieurs milieux de culture de principe et de composition différents sont utilisés pour augmenter les chances d'isoler le plus de mycobactéries possibles.

L'utilisation de milieux liquides permet dans la plupart des cas une croissance plus rapide des mycobactéries (ce qui» dépend évidemment du nombre de bactéries contenues au départ dans le prélèvement).

Le système Bactec permet en outre une **identification préliminaire** présomptive rapide (5-7 jours), à partir du moment où la culture se révèle positive, c'est-à-dire une différenciation entre les mycobactéries du complexe *tuberculosis** et les MOTT (Mycobactéries non tuberculeuses).

On teste la sensibilité ou la résistance au NAP (p-nitro-α-acetylamino-β-hydroxy-propiophenone), composé intermédiaire dans la synthèse du chloramphénicol.

A partir de là, pour les mycobactéries du complexe tuberculosis, il est possible d'obtenir un **antibiogramme** pour les tuberculostatiques courants en 7-10 jours (INH, Rifampicine, Ethambutol, Pyrazinamide).

Nous disposons de **sondes génétiques** permettant l'identification des mycobactéries du complexe tuberculosis, de *Mycobacterium avium/intracellulare, Mycobacterium kansasii* et *Mycobacterium gordonae* (contaminant fréquent).

NB: ces sondes ne sont utilisables que sur des cultures bien positives (il s'agit d'hybridation et non pas d'amplification comme pour les PCR).

L'identification définitive peut parfois prendre plusieurs semaines à plusieurs mois (confirmations sous-traitées).

Les nouveaux cas positifs sont communiqués par téléphone.

* **Le complexe tuberculosis comprend les espèces:**

- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Mycobacterium bovis*
- *Mycobacterium bovis* BCG
- *Mycobacterium africanum* (très rare)

L'identification définitive à l'intérieur de ce complexe peut prendre encore $\geq$ mois supplémentaire.

4. Examens microscopiques

4.1. Examen direct

Un examen direct sans coloration d'une goutte de prélèvement entre lame et lamelle peut être utile pour la mise en évidence rapide de certains micro-organismes, par ex:

1) *Trichomonas vaginalis* d'un frottis génital

2) "Clue cells" associés à *Gardnerella vaginalis*

3) Spirochètes dans un frottis de chancre mou

Toutefois cette observation se fait en général au lit du patient ou au cabinet médical car le prélèvement doit être très frais.

4.2. Principales colorations

4.2.1. Gram

Cette coloration est un des tests de base en microbiologie du fait qu'elle est relativement simple à réaliser, rapide et avantageuse. C'est un des rares tests à disposition pour aider au diagnostic en cas d'urgence médicale.
Cette coloration est effectuée sur tous les prélèvements excepté les frottis de nez et de gorge en routine, les hémocultures et les selles.

La paroi cellulaire des bactéries **"Gram positif",** sous l'action du colorant (Violet de Gentiane) et du mordant (Lugol) formant un complexe, ne se laisse pas décolorer par l'alcool et apparaît **bleu-noir.**
Le tout étant ensuite contrecoloré à la fuchsine, les bactéries **"Gram négatif"** ne forment pas ce complexe insoluble à l'alcool apparaîtront donc en **rouge-rose** au microscope.

Parfois des bactéries en principe Gram + ne retiennent pas bien le Gram, la coloration n'est pas très nette, on parle alors de **"Gram labile",** ceci arrive fréquemment par exemple avec *Gardnerella vaginalis.*

Les résultats sont rendus sous les dénominations suivantes:

Morphologie	**Exemples**
Coques Gram +	cf. ci-dessous.
Coques Gram + type staphylocoque	Staphylocoques *(Aerococcus spp, Micrococcus spp,* etc.).
Coques Gram + type streptocoque	Streptocoques, entérocoques; Peptostreptocoques (anaérobies).
Coques Gram + type pneumocoque	Pneumocoque.
Coques Gram - *donné diplocoques Gram*	*Neisseria* spp. (dont gonocoques et méningocoques); *Moraxella catarrhalis. Veillonella* (anaérobies).
Diplocoques Gram - intracellulaires	Méningocoques, gonocoques.
Bâtonnets Gram -	Entérobactéries; *Pseudomonas* spp.; *Haemophilus* spp.; *Campylobacter* spp, etc.
Bâtonnets Gram - type Haemophilus	*Haemophilus* spp, *Pasteurella* spp.
Bâtonnets Gram - fusiformes	*Fusobacterium* spp.(anaérobies).
Bâtonnets Gram - type anaérobie	*Bacteroides* spp.; *Prevotella* spp.; *Fusobacterium* spp.

Morphologie	Exemples
Bâtonnets Gram +	*Listeria* spp.; *Bacillus* spp.; *Propionibacterium* spp.+ cf. ci-dessous *Clostridium* spp. (anaérobies).
Bâtonnets Gram +/- type Gardnerella	*Gardnerella vaginalis.*
Bâtonnets Gram + ramifiés	*Actinomyces* spp. et *Nocardia* spp. et autres.
Bâtonnets Gram + type Lactobacillus	*Lactobacillus* spp.; *Eubacterium* spp.; etc.
Bât. Gram + type Corynebacterium	*Corynebacterium* spp.
Filaments mycéliens	Dermatophytes, moisissures et levures.

4.2.2. Coloration de Giemsa

Pour les recherches dans le sang sur frottis minces et gouttes épaisses de :

- parasites (malaria, microfilaires, trypanosomes) et
- bactéries *(Borrelia recurrentis* agent de la fièvre récurrente).

4.2.3. Coloration au methenamine-argent

- Recherche de ***Pneumocystis carinii*** particulièrement dans les LBA ou biopsies.
- Recherche d'autres champignons par leur forme mycélienne.

4.2.4. Coloration à l'auramine (fluorescence)

Coloration de "dépistage" pour la recherche de mycobactéries.

Marquage fluorescent des acides nucléiques qui, chez les mycobactéries, sont résistants à la décoloration à l'acide alcool.

4.2.5. Coloration de Ziehl-Neelsen

Coloration de référence pour la recherche de mycobactéries. Toutes les lames positives à l'auramine sont recolorées au Ziehl-Neelsen pour confirmation.

Résultat **exprimé en nombre de BAAR** cf. chapitre 3.7

Une modification de la technique permet de mettre en évidence les *Nocardia* spp. ainsi que les Cryptosporidies.

4.2.6. Coloration au blankophore

Examen direct pour la recherche de champignons dans les prélèvements. Composé fluorescent provenant de la chimie industrielle se liant à la forme de glucose qui compose la paroi cellulaire des champignons et des fibres végétales. Elle permet la distinction entre les **formes levuriques** et les **formes mycéliennes**.

4.3. Interprétation semi-quantitative des examens microscopiques

On estime que le volume de liquide observé à l'agrandissement 1000x correspond environ à un millionième de millilitre. On peut donc établir les correspondances suivantes:

éléments/champ	éléments/mm^3	éléments/ml
1/100 champs	10	10.000 (10^4)
1/ 10 champs	100	100.000 (10^5)
1 par champ	1.000	1.000.000 (10^6)
10 par champ	10.000	10.000.000 (10^7)
etc …		

On considère que le **seuil de détectabilité** dans les liquides corporels non centrifugés se situe à environ **10^5 germes/ml.**

4.3.1. Observation à l'objectif 100x
Comptage des leucocytes et des cellules épithéliales présents:

Cellules par champ	code
0/ champ	0
1-9/ champ	+
10-24/ champ	++
>25/ champ	+++

4.3.2. Observation à l'objectif 100 x

Comptage des micro-organismes présents:

Germes par champ	code
0/ champ	0
1-9/ champ	+
10-24/ champ	++
>25/ champ	+++

4.4. Critères d'exclusion des expectorations

Les expectorations contaminées par la flore oropharyngée n'ont pas de valeur prédictive d'une affection pulmonaire, soit parce que généralement les cultures ne présentent qu'une flore soit parce que les pathogènes potentiels sont plutôt des colonisateurs de la sphère oropharyngée. Afin d'établir un système qualité et d'éviter des analyses coûteuses superflues, il est recommandé de suivre, d'après la coloration de Gram, les critères d'exclusion des expectorations suivants, valables pour les patients immunocompétents:

Leucocytes	C. épithéliales	Interprétation
+++	> ++	refusé
+++	++	accepté avec remarque
+++	≤ +	accepté
++	≤ +	accepté
≤ +	≤ +	refusé

- Les expectorations de **patients hospitalisés** seront exclues **selon ces critères**, (l**e** résultat du Gram) sera **communiqué** au service et un nouveau prélèvement sera demandé.

- Les expectorations obtenues **hors hospitalisation** ou de patients au cabinet médical seront cultivées étant donné la difficulté de répéter le prélèvement.

  NB: Toutefois il est recommandé au médecin de nous communiquer si l'expectoration doit ou non être au préalable considérée selon les critères d'exclusion ci-dessus.

5. Interprétation des numérations de cultures

5.1. Urines

Il est très important que le laboratoire connaisse **la motivation** de l'analyse, **les symptômes cliniques** du patients et **le diagnostic**, la méthode de prélèvement de l'urine et si des antibiotiques ont été administrés au moment ou avant la collection de l'échantillon.

Numération	Nb. de souches	Résultat
10^3	1	identification + antibiogramme (AB) si pyélonéphrite aiguë et uropathogène reconnu
10^3	> 1	croissance bactériologiquement non significative
10^4	1	identification + antibiogramme
10^4	>1	croissance bactériologiquement non significative
$\geq 10^5$	≤ 2	identification + antibiogramme
$\geq 10^5$	> 2	identification + antibiogramme seulement si demandé.

Remarques

- Tous les isolements obtenus dans les urines d'une **ponction sus-pubienne** feront l'objet d'une identification et d'un antibiogramme, quel que soit leur nombre.

- Les géloses de travail étant gardées jusqu'à 6 jours il est possible de demander un antibiogramme par simple appel téléphonique au laboratoire.

5.2. Cathéters

Critères:
Il tentent de différencier une colonisation d'une contamination, de documenter un état septique.

<15 colonies: contamination probable (→ identification seulement).
Toutefois lors de présence de Staphylocoque doré (entérobactéries, entérocoques ou levures) ou d'un germe isolé dans la même période dans les hémocultures, l'antibiogramme peut être décidé après communication des résultats.

15 colonies (1 espèce): infection probable (identification + antibiogramme + résultat communiqué par téléphone). Risque de bactériémie ou septicémie, évaluer la nécessité de faire des hémocultures pour rechercher la bactériémie.

5.3. Bile
Lait maternel
Liquide amniotique
Sperme
Lavage broncho-alvéolaire (LBA)

La numération semi-quantitative des micro-organismes en présence est rendue:

en CFU/ml (Colony Forming Unit).

Ceci peut aider à distinguer les éventuels contaminants des pathogènes probables.

5.4. Prélèvements susceptibles d'être contaminés par la flore normale

La numération semi-quantitative de la culture des micro-organismes sur gélose est encodée comme suit:

+ 1-10 colonies
++ croissance dans la 1re plage seulement
+++ croissance dans la 2e plage
++++ croissance dans la 3e plage

La quantification est nécessaire à l'évaluation de la signification clinique du germe étant donné qu'un pathogène dans un certain contexte peut aussi être un simple saprophyte dans une flore normale (voir les tableaux ci-dessous).

Lieu de l'infection	Source de la contamination
Oreille moyenne	Cavité auriculaire externe
Voies respiratoires inférieures	Oropharynx
Sinus	Nasopharynx
Vessie	Urètre et périnée
Endomètre	Vagin
Plaies superficielles et infections sous-cutanées	Peau et muqueuses
Fistules	Tractus gastro-intestinal

5.5. Flore normale humaine

	Tractus respiratoire	Tractus gastro-intestinal	Tractus génito-urinaire	Peau Oreille Oeil
Acinetobacter spp.			+	+
Actinomyces spp.	+	+	+	
Aerococcus spp.				+
Bacteroides spp.	+	+	+	
Bifidobacterium spp.	+	+	+	
Candida spp.	+		+	+
Capnocytophaga	+		+	
Clostridium spp.		+		+
Corynebacterium spp.	+	+	+	+
Enterobacteriaceae	+	+	+	
Entérocoques		+	+	
Eubacterium spp.	+	+		
Fusobacterium spp.	+	+	+	
Gardnerella vaginalis			+	
Haemophilus spp.	+			
Lactobacillus spp.	+	+	+	
Malassezia spp.				+
Micrococcus spp.	+			+
Mobiluncus spp.			+	
Moraxella spp.	+			
Mycoplasma spp.	+		+	
Neisseria spp.	+		+	+
Peptostreptococcus spp.	+	+	+	+
Prevotella spp.	+	+	+	

Propionibacterium spp.	+	+		+
Staphylococcus aureus	+			+
Staphylocoque coag. nég.	+	+	+	+
Streptococcus agalactiae B	+		+	
Streptococcus pyogenes A	+			
Streptococcus pneumoniae	+			
Streptococcus spp.	+	+	+	
Stomatococcus spp.	+			
Ureaplasma spp.			+	
Veillonella spp.	+	+		

6. Tests de sensibilité aux antibiotiques

6.1. Antibiogramme

Nous utilisons en routine la méthode des disques imprégnés d'antibiotiques (diffusion sur gélose) appelée **méthode de Kirby Bauer.**

Il s'agit d'un test qualitatif dont le résultat est exprimé en:

S = sensible
I = intermédiaire
R = résistant

Nous testons un choix d'antibiotiques les plus adéquats pour la catégorie de bactéries, suivant les recommandations de normalisation édictées par le **NCCLS** (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Ces normes sont périodiquement remises à jour.

Certaines bactéries ou antibiotiques ne figurent pas dans les tabelles NCCLS, il peut alors être décidé par le laboratoire sur indication ou par le clinicien, d'évaluer la sensibilité par une **CMI commerciale** (ε-test® Cf. 6.2.1.). Pour cela il est important de mentionner le traitement antibiotique administré.

6.1.1. Béta-lactamase

Pour la recherche rapide et sûre d'une résistance à la pénicilline chez certaines bactéries: *Haemophilus influenzae, Neisseria gonorrhoeae, Moraxella (Branhamella) catarrhalis.*

Une souche β-lactamase positive est résistante aux pénicillines G et V, ainsi qu'à ampicilline et amoxycilline.

Cette β-lactamase peut être inhibée par l'acide clavulanique, le tazobactam ou le sulbactam.

6.2. Concentrations minimales inhibitrice et bactéricide (CMI et CMB)

Détermination **quantitative** de la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques par la **méthode des dilutions sérielles en bouillon.**

Le résultat est exprimé en milligrammes/litre (mg/l).

C'est une mesure **plus précise** qu'un antibiogramme par la méthode des disques, mais difficilement applicable en routine pour toutes les souches isolées. On la réserve donc à des cas graves, tels que septicémies, endocardites, ostéomyélites, sur demande spéciale.

La CMI de l'antibiotique pour une souche étudiée est définie comme la plus faible concentration encore capable d'inhiber toute croissance bactérienne visible à l'oeil nu après 18-24h de contact à 37°C.

La CMB est la plus faible concentration d'antibiotique capable de détruire au moins 99,9% d'une population bactérienne.

NB: on ne peut pas déterminer la CMB sans avoir mesuré la CMI auparavant.

6.2.1. *ε-test*

Le ε-test® (epsilon) est basé sur une combinaison des méthodes de dilution et de diffusion sur gélose. **Les bandelettes** du ε-test® sont constituées de plastique fin, inerte et non poreux.

Sur la face inférieure de la bandelette est fixé un gradient prédéfini et exponentiel de l'antibiotique

stabilisé. Le gradient est continu et stable, ce qui permet une lecture semi-continue de la CMI (contrairement aux méthodes traditionnelles où on a des dilutions par 2).

Lorsqu'on applique une bandelette sur une gélose ensemencée, immédiatement l'antibiotique se met à diffuser dans la gélose. Après incubation, une zone d'inhibition elliptique et symétrique par rapport à l'axe de la bandelette apparaît.

La CMI peut être lue à l'endroit où la zone d'inhibition rejoint la bandelette. **Cette méthode ne permet pas de mesurer la CMB.**

6.3. Test de bactéricidie

But. Contrôler l'efficacité du traitement aux antibiotiques dans des cas d'endocardites, ostéomyélites ou septicémies graves, en mesurant le pouvoir bactéricide du sérum du patient sur la souche isolée.

Procédure

- Le malade doit être au minimum depuis **48h sous traitement** antibiotique.
- Le sang est prélevé **avant et après une nouvelle administration** d'antibiotique, pour obtenir la concentration sérique minimale et maximale.
- **Injection intramusculaire:** prélever juste avant et 1 à 2h après l'injection.
- **Injection ou perfusion intraveineuse:** prélever juste avant et 30-60 min. après l'injection (ponctionner une autre veine).
- **Voie orale:** prélever juste avant et 1-2 h après la prise selon le taux d'absorption, qui peut varier d'une substance à une autre: par ex: floxapen, pénicilline V = 1 h., ampicilline = 2h.

Envoyer le sang dans des **tubes stériles, sans anticoagulant**, en mentionnant bien sur chaque tube quel est le prélèvement avant et après administration de l'antibiotique.

Résultat

Il s'exprime en taux de dilution du sérum correspondant à la plus grande dilution encore capable de détruire au moins 99,9% de la population bactérienne.

Interprétation

Bactéricidie insuffisante:	Titre (max. et min.) $\leq$ 1/2
Bactéricidie moyenne à bonne:	Titre (max.) 1/4 à 1/16 et titre (min.) 1/2 à 1/4
Bactéricidie très bonne:	Titre (max.) $\geq$ 1/32 et titre (min.) $\geq$ 1/8

Dans le sérum prélevé après administration de l'antibiotique (max.), il est reconnu dans la littérature **qu'un taux $\geq$ 1/16 a une bonne corrélation avec un succès thérapeutique** des endocardites, des atteintes osseuses ou des sepsis chez les patients neutropéniques.

NB: veuillez s'il vous plaît prendre contact avec l'IMN pour nous avertir par téléphone, au moins un jour à l'avance; le test se fait sur 72h.

6.4. Antibiogramme des mycobactéries

Pour ce groupe particulier de bactéries, les méthodes déterminant la sensibilité aux antibiotiques spécifiques ne sont pas incluses dans les normes NCCLS:

- ***Mycobacterium tuberculosis* (complexe)**
  Système Bactec® (croissance en bouillon): méthode standardisée généralement reconnue. Elle peut être confirmée par la méthode proportionnelle pratiquée dans les laboratoires universitaires.

  Résultat communiqué sous forme: **sensible ou résistant.**

- ***Mycobactéries* atypiques**
  Pas d'études prospectives et corrélation in vitro avec la situation in vivo mal connue.

  Antibiogramme sous-traité généralement au Laboratoire des Mycobactéries du CHUV.

6.5. Antifongigramme pour levures

Il est effectué sur demande ou pour des infections graves à levures ou encore lors de mycoses résistantes au traitement.

Le test de screening consiste en une palette d'antifongiques dosés à 2 dilutions limites correspondant aux 2 zones critiques de sensibilité réduite.

Sont communiqués:

- **Fluconazole**
- **Itraconazole**
- **Ketoconazole**

Les résultats sont exprimés en:

S = sensible
I = intermédiaire
R = résistant

Pour toute souche résistante demandant confirmation, la souche est envoyée à notre centre de référence au CHUV (cf. annexe 2). Il en va de même pour les éventuelles CMI pour des moisissures.

7. Sérologie

7.1. Introduction

Les tests sérologiques servent à:

- rechercher des **anticorps** contre des antigènes de certains agents pathogènes.
- rechercher des **antigènes** (par ex. hépatite, HIV, certains champignons, etc.)

Il reposent sur les tests immunologiques basés sur l'affinité entre les anticorps et les antigènes.

Les tests sont tous caractérisés par des valeurs de **sensibilité et spécificité**. Ces valeurs dépendent des limites techniques du test à détecter un paramètre, de la population choisie, etc De plus, ces 2 valeurs sont liées entre elles. Nous renonçons ici à documenter ces valeurs qui varient fortement selon les auteurs mais elles restent disponibles sur demande.

Les valeurs plus utiles à l'interprétation sont les **valeurs prédictives d'un résultat positif (VPP) ou négatif (VPN).** Celles-ci dépendent de la prévalence dans la population. Il est important de réaliser que la valeur d'un test augmente fortement lorsque le patient présente plusieurs facteurs de risque; pour un test demandé au hasard la valeur VPP est généralement tellement basse qu'elle en devient inutile ou même fausse pour la gestion du patient.

Dans notre tableau 7.1 nous avons chercher à codifier le niveau d'importance des tests sérologiques par rapport à son utilité pour le diagnostic et sa valeur pour la gestion du patient.

7.1.1. Prélèvements

Les tests sont validés en principe sur du **sérum** quelque fois sur du **liquide céphalo-rachidien (LCR)** mais ils pourraient aussi se faire à partir de plasma, de liquide de ponction ou d'humeur aqueuse.

Envoyer **5-10 ml de sang natif (sans anticoagulant) ou**
2-5 ml de sérum.
au moins 2 ml de LCR (toujours avec du sérum en parallèle!)

NB: Ces prélèvements doivent être **gardés à 4-8°C** s'ils ne sont pas acheminés le jour même.

Prélever un 2e échantillon 7-21 jours ou plus (selon pathogène et marqueur) après le 1er prélèvement si l'on désire suivre l'évolution des anticorps.

7.1.2. Résultats

Les résultats peuvent être exprimés en **"positif", "négatif", "équivoque"**, par un **titre** (exprimé en dilution du sérum) en **indice** ou en **unités** (ex: unités internationales/ml,…).

Les valeurs sont toujours accompagnées de bornes d'interprétation. Un résultat "positif" ou "négatif" se rapporte uniquement au test, pas à la maladie elle-même.

7.1.3. Motivation

Il est essentiel de **motiver la demande** afin de permettre une bonne **gestion de la qualité de l'analyse** qui passe par le choix des tests jusqu'à l'interprétation adéquate des résultats. Nous ne sommes pas en mesure de commenter des résultats sans renseignements cliniques.

7.2. Sérologie pour les agents pathogènes et maladies les plus courants.

Codes:
A = Sérologie obligatoire ou nécessaire pour poser le diagnostic;

B = Sérologie utile pouvant influencer ou modifier de manière significative la prise en charge du patient;

C = Sérologie peu indicative mais pouvant documenter rétrospectivement ou épidémiologiquement le cas mais ne changeant pas la prise en charge du patient.

NE: Les résultats positifs d'analyse à code A sont communiqués au médecin par téléphone. Les commentaires à la validation médicale dépendent des précisions cliniques obtenues sur la feuille de demande.

Agent pathogène **Maladie / Paramètre**	**Test** **Fréquence de l'analyse**	**Résultat**	**Code**	**Remarques** *AST = analyse sous-traitée (cf annexe 1)*
Adénovirus	FC lx / semaine (lundi - mardi)	Titre	**C**	Un 2^{e} sérum 15 jours plus tard est souhaitable.
Antistreptolysines Antistaphylolysines Antipneumolysines			**C**	AST.
Bartonella henselae (Griffes du chat)	IF (IgG, IgM)	Titre	**B**	AST. Titre IgG>1/512 évocateur d'une infection. PCR indiquée à partir d'une aspiration ou d'une biopsie de ganglion.
Bordetella pertussis (Coqueluche)	(IgG, IgA)		**B**	AST. Permet de documenter une coqueluche récente > 2 semaines. La PCR est possible sur un prélèvement nasopharyngé pendant la phase paroxysmale.
Borrelia burgdorferi (Lyme) Dépistage:	ELFA (IgG + IgM) Chaque jour	Indice	**C**	Réactions croisées en IgM connues avec Herpesviridés et Toxoplasmose. PCR indiquée pour les ponctions de genou et biopsies de peau.
Confirmation:	Western-Blot (IgG,IgM)	Appréciation	**B**	AST. Spécificité améliorée pour les stades tardifs.
Neuroborréliose:	ELISA Capture (IgG, IgM)	Index	**A**	Envoyer du sérum avec le LCR. Calcul de la production intrathécale. AST.
Brucella spp	Agglutination Chaque jour	Négatif Positif (titre)	**B**	Réaction avec B. melitensis, B. abortus bovis et B. suis.
Campylobacter jejuni	FC lx / semaine (lundi - mardi)	Titre	**C**	Manifestations extra-digestives seulement! (par ex. Syndrome de Guillain Barré).
• *C trachomatis* • *C. psittaci* • *C. pneumoniae*	IF (IgG, IgM, IgA) 1x/semaine (jeudi)	Titre	**C**	Screening pour Chlamydiae ou test individuel.
Coxiella burnetti (Fièvre Q)	IF	Titre	**A**	AST. Dépistage sur la phase II. Si positif titration sur la phase II et la phase I.
Cryptococcus neoformans	Agglutination (antigène) Chaque jour	Négatif Positif (titre)	**A**	Chez les immunocompétents. Le titrage permet un suivi thérapeutique.

Agent pathogène **Maladie / Paramètre**	**Test** **Fréquence de l'analyse**	**Résultat**	**Code**	**Remarques** *AST = analyse sous-traitée (cf annexe 1)*
(LCR + sérum)				
Cytomégalovirus	ELFA (IgG, IgM) Chaque jour	• IgM: U/ml • IgG: UA/ml	**B**	
	Test d'avidité des IgG	en %		Permet de dater une infection de plus de 3 mois. cf. sous-traitance.
Echinocoques	ELISA		**B**	AST.
E. histolytica	ELISA		**A**	AST.
Fièvre Q	*cf. Coxiella burnetti*			
Francisella tularensis	Agglutination (Ig)	Titre	**B**	AST.
Helicobacter pylori	EIA quantitatif (IgG)	E/ml	**B**	Test de dépistage chez les enfants symptomatiques. Permet aussi le suivi après traitement.
Hépatite A	Ig totaux (IgM si +)	Négatif Positif	**A**	AST.
Hépatite B	Ag Hbs, Ac anti-Hbs Ac. Anti-Hbc Ag. Hbe, Ac anti-Hbe	Négatif Positif	**A**	AST. Titration des anticorps Hbs lors du contrôle de la vaccination. Virémie par hybridation cf. Ch 8.0.
Hépatite C	1g totaux (IgM si +) Confirmation	Négatif Positif	**A**	AST. Virémie par PCR nécessaire pour documenter l'infectiosité cf. Ch 8.0.
Hépatite D	Ac totaux	Négatif Positif	**A**	AST. Seulement si Hépatite B positive.
Hépatite E	Ac totaux	Négatif Positif	**A**	AST.
Herpes simplex	IF (IgG, IgM) 1x/semaine (mercredi)	Négatif Positif	**C**	
atteinte neurologique	IF (IgG, IgM)	Négatif Positif		**Envoyer du sérum avec le LCR.** Titration si positif et calcul de la production intrathécale si nécessaire. PCR cf. Ch 8.0.
HIV1,2	Ac totaux Confirmation	Négatif Positif	**A**	AST. Recherche d'antigène p. 24. Virémie par PCR cf. Ch 8.0.
Influenza A/B	FC lx/semaine(lundi-mardi)	Titre	**C**	Un 2e sérum 15 jours plus tard est souhaitable.
Légionelles: *L. pneumophila 1-6*	IF lx/semaine (jeudi)	Titre	**C**	
Leptospirose	Ig totaux		**A**	AST.
Mycoplasma pneumoniae	FC 1x/semaine(lundi-mardi)	Titre	**B, C**	Les titres sont souvent élevés dans le 1er sérum en raison d'une longue incubation.
N. gonorrhoeae	FC 1x/semaine(lundi-mardi)	Titre	**C**	Utile en cas d'arthrite réactionnelle.
Oreillons	IF (IgG, IgM)		**B**	AST.
Parainfluenza *1,2,3*	FC 1x/semaine(lundi-mardi)	Titre	**C**	Réaction croisée parfois avec les oreillons. Un 2e sérum 15 jours après est souhaitable.
Parvovirus *B19*	(IgG, IgM)		**C**	AST.
Rickettsies	IF (IgG, IgM)		**A**	AST. Les résultats positifs en IgM seulement doivent être contrôlés après 21 jours; la présence simultanée d'IgG est obligatoire lors d'infection aiguë.
Rougeole	ELFA IgG (chaque jour) IgM	Taux Négatif Positif	**B**	AST.
Rubéole	ELFA (IgG, IgM) chaque jour	IgG UI/ml IgM U/ml	**B**	
	Test d'avidité des IgG	en %		AST. Permet de dater une infection de plus de 2 mois.

Agent pathogène **Maladie / Paramètre**	**Test** **Fréquence de l'analyse**	**Résultat**	**Code**	**Remarques** *AST = analyse sous-traitée (cf annexe 1)*
• *S. Typhi* • *S. Paratyphi A,B,C* • *S. Enteritidis* • *S. Typhimurium*	Widal (agglutination) chaque jour	Négatif Positif (titre)	**C**	Intérêt épidémiologique et dépistage d'arthrites. Ne permet pas de diagnostiquer une manifestation gastro-intestinale.
Syphilis (sérum) *Treponema pallidum*	RPR test rapide chaque jour TPHA dépistage 1x/semaine (mardi) IF FTAabs confirmation 1x/semaine (mardi)	Titre Titre Négatif/Positif	**A, B**	Nombreuses réactions croisées connues rendant difficile l'interprétation de titres bas particulièrement lors de dépistage systématique. Les titres $\geq$ 8 en RPR (VDRL) et TPHA $\geq$ 1/160 ont une valeur prédictive élevée.
Neurosyphilis	TPHA (screening LCR) 1x/semaine	Titre	**A**	**Envoyer du sérum avec le LCR.** Si positif AST si nécessaire. La mise en évidence d'une production intrathécale nécessite le dosage des IgG totaux dans le sérum et le LCR.
Toxocara canis	ELISA (IgG)		**A**	AST.
Toxoplasma gondii	ELFA (IgG, IgM) Dépistage chaque jour	IgG UI/ml IgM U/ml	**A**	Dépistage.
	Test d'avidité des IgG	en %	**A**	Permet de dater une infection de plus de 4 mois.
	ISAGA (IgM, IgA) IF (IgG, IgM) Agglutination directe IgG	Titre	**A**	AST. Tests de confirmation, et dépistage IgM IgA chez le nouveau-né.
profil mère/enfant	ELIFA (1g totaux)	Commentaire	**A**	Dès la naissance différencie les anticorps de l'enfant de ceux de sa mère. **Veuillez envoyer le sérum de la mère avec celui du nouveau-né.**
Varicelle / Zona	ELFA (IgG) chaque jour IF (IgM) 1x/semaine (mercredi)	Négatif Positif (titre) Négatif Positif	**B**	
	IgA		**B**	AST. Utile lors des réactivations du zona et des atteintes neurologiques.
Virus d'Epstein-Barr	Agglutination rapide (Monotest) chaque jour	Négatif Positif	**B**	Permet de donner un réponse rapide. Sensibilité $\pm$ 90%. Les mononucléoses infectieuses (MNI) négatives au monotest sont dues aux CMV, toxoplasmose, HIV, hépatites, etc Mauvaise sensibilité chez les enfants de moins de 7 ans (50%).
	ELISA (VCA IgG, IgM et EBNA IgG) 1x/semaine (vendredi)	Négatif Positif	**B**	La combinaison des 3 paramètres permet d'estimer le moment de l'infection. Nous faire savoir si vous désirez une appréciation quantitative, AST.
Virus respiratoire syncitial (RSV)	FC (Ig totaux)		**C**	
Virus de l'encéphalite à tiques FSME	ELISA (IgG, IgM)		**A**	**AST.**
Yersinia enterocolitica	Immunoblot (IgG, IgA)		**C**	**AST.**

8. Diagnostic moléculaire

8.1. Tableau général des prestations les plus courantes

Micro-organisme recherché	Méthode	Prélèvement et transport Fréquence (cf. aussi annexe 1 et 2)
Bartonella henselae* et *Bartonella quintana	PCR	Biopsie ou pus dans tube stérile **(à garder réfrigéré).** AST.
Bordetella pertussis **(coqueluche)**	PCR	Sécrétions nasopharyngées dans le tube NPS-PCR TM. AST.
Borrelia burgdorferi **(sensu stricto, ou 3 génotypes)**	PCR	Liquide articulaire et LCR (**à garder réfrigéré**). AST.
Chlamydia trachomatis	PCR	Etui **AMPLICOR**, voir 8.1. et urine 2x/semaine, le mardi et le vendredi.
Entérovirus	PCR	1-2 ml (**à garder réfrigéré**). AST.
Hépatite B virémie	Hybridation	Sang EDTA 5 ml ou plasma 3 ml. AST.
Hépatite C	PCR qualitative	Sang EDTA 5 ml, plasma ou sérum 3ml, 1 à 2x/ 15 jours.
Hépatite C virémie	PCR quantitative	Sang EDTA 2x 5 ml ou plasma 3-5ml. AST.
Hépatite C génotypage	PCR et profil de digestion	Sang EDTA 2x 5 ml ou plasma 3-5 ml. AST.
HIV virémie	PCR	Sang EDTA 5-10 ml, ou plasma 3-5 ml 1x /semaine, le jeudi cf. Ch.8.3.
HIV résistances aux antiviraux	PCR	Sang EDTA 5-10 ml, ou plasma 3-5 ml AST.
Mycobactéries du complexe *tuberculosis*	PCR	Expectoration, Aspiration, LBA etc. Biopsie, LCR 2-5 ml (**à garder réfrigéré**). AST.
Neisseria gonorrhoeae	PCR	Etui **AMPLICOR**, cf. Ch 8.1. et urine 2x/semaine, le mardi et le vendredi.
Papilloma virus humain	Hybridation de l'ADN	Etui DIGENE cf. Ch.8.2. AST.
Toxoplasma gondii	PCR	LCR 2-4 ml (**à garder réfrigéré**). Liquide amniotique 10-20 ml. AST.
Virus (CMV, EBV, HSV, VZV, JC)	PCR	LCR 1-2 ml (**à garder réfrigéré**). AST.

NB: La liste n'est pas exhaustive, pour toutes autres analyses particulières (Parvo B19, *M.pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Eubacterial PCR,* légionelles, rickettsies, etc.) veuillez nous contacter directement au laboratoire s'il vous plaît.

8.2. Chlamydia trachomatis et Neisseria gonorrhoeae

La recherche de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* se fait **simultanément** à partir d'un seul et même prélèvement avec le système **AMPLICOR™ CT/NG.**

8.2.1. Urine (femmes ou hommes)

- Le patient ne doit **pas avoir uriné** au cours des **2 heures** précédant le prélèvement.
- Recueillir **10-50 ml d'urine de premier jet** de la miction dans un tube en plastique stérile de 50 ml.
- Boucher le récipient, l'étiqueter et l'acheminer rapidement au laboratoire. Le prélèvement **réfrigéré** se conserve **≥ 24 heures.**

8.2.2. Frottis cervical

- Placer un spéculum, **enlever la glaire** au niveau de l'exocol avec un des écouvillons grand modèle fournis et **le jeter**.
- Introduire l'autre écouvillon grand modèle au niveau de **l'endocol** jusqu'à ce que l'extrémité ne soit plus visible. Faire **tourner l'écouvillon** pendant 3-5 secondes. Le retirer en évitant le contact avec les parois vaginales.
- Placer l'écouvillon dans le tube AMPLICOR™ contenant le milieu de transport, **agiter vigoureusement l'écouvillon dans le liquide** pendant 15 secondes. **Exprimer le liquide de l'écouvillon** contre la paroi du tube. Enlever tout excès de glaire se trouvant dans l'échantillon à l'aide de l'écouvillon et exprimer encore tout liquide résiduel provenant de la glaire contre la paroi du tube. Sortir l'écouvillon et l'excès de glaire et **jeter l'écouvillon.**
- Boucher le tube, l'étiqueter et **l'acheminer rapidement au laboratoire**

8.2.3. Echantillons urétraux (hommes)

Le patient ne doit **pas avoir uriné dans l'heure** précédant le prélèvement

- Introduire l'écouvillon petit modèle de **2-4 cm dans l'urètre**.
- Faire **tourner l'écouvillon** pendant 3-5 secondes et le retirer.
- Placer l'écouvillon **dans le tube AMPLICOR™** contenant le milieu de transport. **Agiter vigoureusement** l'écouvillon dans le liquide pendant 15 secondes. Exprimer le liquide de l'écouvillon contre la paroi du tube. Sortir **l'écouvillon et le jeter**.
- Boucher le tube, l'étiqueter et **l'acheminer rapidement au laboratoire.**

8.2.4. Frottis de conjonctive

- **Eliminer tout exsudat purulent** avec un tampon stérile.
- **Frotter vigoureusement** la conjonctive tarsale avec le petit écouvillon. Utiliser un écouvillon pour chaque oeil séparément
- Placer l'écouvillon dans le tube AMPLICOR™ contenant le milieu de transport. **Agiter vigoureusement** l'écouvillon dans le liquide pendant 15 secondes. **Exprimer le liquide** de l'écouvillon contre la paroi du tube. Sortir l'écouvillon et **le jeter.**
- Boucher le tube, l'étiqueter et l'acheminer rapidement au laboratoire.

! Attention: les échantillons transportés avec l'écouvillon peuvent contenir des inhibiteurs de la polymérase!

8.3. Papilloma Virus Humain

8.3.1. Frottis cervicaux

Si on désire faire un examen cytologique, prélever l'échantillon pour le Papanicolaou en premier lieu. Ne pas procéder au prélèvement après application d'acide acétique.

- **Identifier** le tube de transport (Etui DIGENE) avec nom et prénom de la patiente.
- Retirer l'écouvillon en Dacron de son emballage, l'introduire dans le canal endocervical et **obtenir les cellules par rotation.** Frotter aussi fermement toute zone de transformation,
- Placer **l'écouvillon dans le tube de transport**, casser la tige et refermer le tube.
- Etiqueter et **acheminer le tube rapidement au laboratoire**.

8.2.2. Biopsies cervicales

Placer immédiatement la biopsie de tissu frais (2-5 mm de diamètre) dans le tube de transport. Faire parvenir le prélèvement **immédiatement** au laboratoire **ou le conserver à -20°C** jusqu'à son envoi.

8.4. Virémie HIV

La virémie est mesurée par RT-PCR sur le système HIV Monitor (Cobas AMPLICOR^{TM}). Généralement la virémie se fait par:

- **Méthode sensible** dont les limites de linéarité vont de 50 copies/ml à 75'000 copies/ml.
  Cette méthode permet un suivi optimum des patients traités toutefois si vous désirez une autre sensibilité faites le nous savoir sur la feuille de demande; parmi ce choix:
- **Méthode standard** $\geq$ 400 copies/ml
- **Méthode ultrasensible** $\geq$ 10 copies/ml

Ces dernières analyses sont sous-traitées (cf. annexe 1).

8.4.1. Prélèvements

Pour mesurer <u>la charge virale</u> de HIV, veuillez envoyer:

- **5-10 ml de sang prélevé sur EDTA** (par ex: tubes S-Monovette EDTA KE/9 ml fournis sur demande par l'INM) ou
- **3-5 ml de plasma à** garder réfrigéré ou congelé.

Cette analyse est pour le moment effectuée **1x / semaine** le jeudi.

NB: Il est capital pour un résultat optimal que les tubes de sang parviennent au laboratoire dans un **délai maximal de 6 heures**. Si ce délai ne peut pas être respecté, nous vous recommandons de centrifuger 20 minutes à 1500 g le tube de sang EDTA pour la virémie et d'envoyer le plasma.

La détermination des CD4 étant assurée par le **Centre de transfusion (SRNJTS)** ajouter: **1 tube de 2-5 ml de sang prélevé sur EDTA**.

Cette analyse se fait **tous les jours** sauf le week-end.

NB: Pour la détermination des CD4 envoyer le tube EDTA prélevé le jour même; veuillez nous faire savoir si le prélèvement nous parviendra après 15h00.

Transport

Pour une plus grande efficacité, nous vous proposons de regrouper le ramassage des tubes pour ces deux analyses. Nous vous serions reconnaissants de **prendre contact avec un des laboratoires avant la prise de sang**, pour que nous puissions planifier le transport par un de nos coursiers.

8.4.2. Résultats

Les résultats sont exprimés en copies/ml.

Ils sont généralement envoyés **par courrier A le jeudi.** Si vous le souhaitez, ils peuvent être transmis par fax; dans ce cas veuillez nous le faire savoir sur la feuille de demande.

8.5. HCV qualitatif et virémie

Les tests de détection du virus de l'hépatite C (HCV) dans le plasma ou le sérum se font par **RT-PCR.**

La **PCR qualitative** étant plus sensible (100 copies ARN/ml ou 50 UI/ml), il est préférable d'y faire recours sur un résultat de sérologie positive pour HCV lorsque l'on cherche à déterminer si le patient est infectieux ou seulement immun. Le résultat de ce test est plus utile que d'attendre celui de la confirmation par l'immunoblot pas toujours décisive. La virémie pouvant être variable, un test négatif doit être répété après 3-6 mois.

La **PCR quantitative** ou (Monitor) permet le suivi de la virémie du patient traité ou qui va l'être. Sa sensibilité est autour de 1000 copies ARN/ml ou 600 UI/ml. Cette analyse est sous-traitée (cf. annexe 1). Le **génotype** peut être demandé avec cette analyse en vue du traitement.

8.5.1. Prélèvements

Veuillez prélever **5-10 ml EDTA de sang**; le faire parvenir le jour même au laboratoire ou **2-5 ml** de plasma (peut être envoyé par courrier A) ou même du plasma congelé.

Ce test est fait **1-2 x/15 jours** selon les demandes.

N.B.: Vu la grande stabilité de la virémie dans le plasma ou sérum lors du stockage à 4-8°C et à la congélation successive, il est possible de faire une PCR sur le même prélèvement utilisé pour la sérologie au préalable.

8.5.2. Résultats

Les résultats de la PCR qualitative sont exprimés en négatif/positif. Ils sont généralement communiqués le jour même par téléphone.

9. Parasitologie

9.1. Introduction

Durant ces dernières années le paysage du diagnostic parasitaire s'est considérablement modifié. La généralisation des voyages dans les pays tropicaux, l'arrivée de migrants de pays lointains et l'émergence de parasites opportunistes qui atteignent les patients immunodéprimés ont contribué à une vaste diversification des parasites rencontrés. Aux parasitoses autochtones s'ajoutent de plus en plus fréquemment des maladies contractées dans les pays lointains qui nécessitent d'être rapidement diagnostiquées.

Les techniques de diagnostic ont aussi beaucoup évolué. Si la microscopie après enrichissement et/ou coloration de l'échantillon reste la méthode la plus couramment utilisée, des techniques de recherche antigénique de l'agent en cause, de sérologie ou de diagnostic moléculaire sont de plus en plus accessibles.

9.2. Types d'affections par site

Site	Parasite (pathogène en gras)	Matériel	Sérologie possible	Remarque
Intestin		**Selles**		
	Balantidium coli			
	Blastocystis hominis			
	Chilomastix mesnili			
	Cryptosporidium parvum	+ Biopsie intestinale		
	Cyclospora cayetanensis	+ Biopsie intestinale		
	Dientamoeba fragilis			
	Entamoeba histolytica	+ Biopsie de côlon		Différenciation possible par PCR après culture (selles fraîches non fixées): AST. La sérologie n'est pas indiquée pour la localisation intestinale.
	Entamoeba coli *Entamoeba hartmanni* *Endolimax nana* ***Giardia lamblia***	+ Liquide duodénal		Recherche antigénique utile pour un suivi thérapeutique: AST.
	Iodamoeba bütschlii			
	Isospora belli	+ Biopsie intestinale		
	Microsporidies	+ Biopsie intestinale		Coloration spéciale' AST
	Sarcocystis spp			
	Trichomonas hominis			
	Ankylostoma duodenale			
	Ascaris lumbricoides		**oui**	
	Chlonorchis sinensis			
	Diphyllobothrium latum			
	Enterobius vermicularis (Oxyures)	**Scotch test**		
	Fasciola hepatica			
	Hymenolepis spp		**oui**	
	Necator americanus			
	Paragonimus westermani			
	Schistosoma spp	+ biopsie rectale	**oui**	
	Strongyloides stercoralis	+ expectoration	**oui**	Recherche des larves dans les selles fraîches.

Site	Parasite (pathogène en gras)	Matériel	Sérologie possible	Remarque
	(anguillules) ***Taenia spp*** ***Trichuris trichiura***			Sérologie recommandée.
II. Sang		**Sang EDTA**		
	Babesia spp			Peu de cas documentés encore en Suisse. Chez les patients immunodéprimés (PCR): AST. Respecter la périodicité (cf. prélèvements). Recherche antigénique possible pour *P. falciparum.*
	Leishmanies	**+ moelle osseuse**	**oui**	
	Microfilaires		**oui**	
	Plasmodium spp		***oui***	
	Trypanosoma spp		***oui***	
III. Poumon		**Expectorations**		
	Ankylostomes	**+ selles**		Larves en transit
	Ascaris lumbricoides	**+ *selles***	**oui**	Larves en transit
	Cryptosporidium spp	**+ selles**		
	Echinococcus spp		***oui***	
	Paragonimus westermani	**+ *selles***		
	Strongyloides stercoralis	**+ *selles***	**oui**	Larves en transit
IV. Foie et rate		**Ponction, biopsie**		
	Echinococcus spp		**oui**	Sérologie recommandée
	Entamoeba histolytica		**oui**	Recherche souvent négative dans les selles. **La sérologie est la méthode de choix Pour les localisations viscérales:** AST.
	Fasciola hepatica		**oui**	
	Leishmania donovani		**oui**	Détectés occasionnellement dans la sang périphérique.
	Toxoplasma gondii		**oui**	**La sérologie est la méthode de choix**
V. Peau		**Biopsie, "snip"**		
	Dracunculus medinensis			Vers de Médine, adultes sous la peau.
	***Leishmania* spp**			
	Mansonella streptocerca			
	Onchocerca volvulus		*oui*	
	"Pou du canard" ou dermatite du baigneur			Réaction immunologique aux larves d'une bilharziose (vers) des canards.
	Gale, myase ou puce-chique	**Identification du parasite**		Tiques, puces, poux.
	Ectoparasites			
VI. Muscle		**Biopsie**		Dans les nodules.
	Cysticerques		**oui**	
	Onchocerca volvulus		**oui**	
	Trichinella spiralis		**oui**	
	Trypanosoma cruzi		**oui**	
VII. Oeil		**Biopsie, grattage**		
	***Acanthamoeba* spp**	**+ Verre -de contact**		Examen direct et culture: AST.

Site	Parasite (pathogène en gras)	Matériel	Sérologie possible	Remarque
	Cysticerques		**oui**	
	Loa loa	Filaire retirée	**oui**	
	***Toxoplasma* gondii**		**oui**	Par histologie seulement.
	Toxocara canis	Sérologie	**oui**	Réaction granulomateuse de la rétine.
VIII. Système uro-génital		**Urine**		
	Schistosoma haematobium		**oui**	
	Trichomonas vaginalis	**+ Frottis vaginal + Frottis urétral**		Urétrite chez l'homme
IX. Système nerveux central		**LCR et Biopsie**		
	***Acanthamoeba* spp**			AST.
	Cysticerques		**oui**	
	***Echinococcus* spp**		**oui**	
	Naegleria fowleri			AST.
	Toxoplasma gondii		**oui**	Par PCR. Faire d'abord une sérologie dans le sang

9.3. Prélèvements

Afin d'assurer une bonne prise en charge des échantillons, il est très important pour le laboratoire de disposer d'un maximum **d'informations cliniques**.

Veuillez dans la mesure du possible indiquer sur le bon de demande d'analyse:

- Des informations cliniques (symptômes, état immunitaire).
- Toute information relative à un séjour à l'étranger (durée, destination(s) précise(s), date du retour).
- D'éventuels traitements et prophylaxies.

Pour le prélèvement des **expectorations**, des **frottis vaginaux** et **urétraux**, veuillez suivre les indications données au chapitre 3.

9.3.1. Tractus intestinal

Selles
Envoyer rapidement un tube de **selles fraîchement émises** (10g) sans adjonctions (tube FECON®) et 3x un tube contenant les selles (environ 1g = volume d'une noisette) fixées et homogénéisées dans **10 ml de solution SAF** (tube FECON®). Le prélèvement devrait se faire par petites portions à plusieurs endroits des selles; s'il y a du mucus ou du sang, prélever à ces endroits-là. Les **3 échantillons** devraient être prélevés **sur 3 jours différents** et si possible non consécutifs, en l'espace de 10 jours maximum.

Le patient ne doit pas avoir reçu de traitement antibiotique, antiparasitaire ou de baryum dans les 2 semaines précédant l'examen; de manière générale indiquer tout traitement. Les prélèvements contaminés par de l'urine ne sont pas acceptables.

Les oeufs et larves d'helminthes ne sont pas présents dans les selles durant la phase précoce qui peut durer jusqu'à 3 mois.

Recherche de larves dans les selles (anguillules)
Faire parvenir immédiatement les selles encore chaudes sans additifs, les larves devraient être encore

vivantes à la réception du matériel.

Liquide duodénal
Mettre le liquide d'aspiration dans un tube stérile de 15 ml et faire parvenir immédiatement

Scotch-test (Oxyures)
Le matin avant la toilette, appliquer sur l'anus un morceau de ruban adhésif transparent en insistant bien dans les replis; le coller ensuite sur une lame porte-objet en évitant les bulles d'air. **Bien envelopper avant l'expédition (les oeufs sont contaminants).**

Biopsies
Placer la biopsie dans un tube stérile de 15 ml avec très peu d'eau physiologique stérile pour maintenir l'humidité et faire parvenir rapidement au laboratoire.

Vers ou segments de vers
Mettre l'élément à identifier dans un tube de 15 ou 50 ml contenant de l'eau physiologique (pas de formol).

9.3.2. Sang

Recherche de Malaria
Prélever le sang dans un **tube EDTA** de 5 ml. Faire parvenir **immédiatement** le tube au laboratoire. Prélever au cours d'un accès de fièvre et noter l'heure de la prise sur la feuille de demande.

Il est aussi possible d'envoyer 6 frottis minces et 4 gouttes épaisses piquées au bout du doigt. Dans ce cas la recherche antigénique de *p. falciparum* ne pourra pas être faite.

Recherche de Filaires et Trypanosomes
Prélever 10 ml de sang EDTA ou hépariné. Faire parvenir **immédiatement** le tube au laboratoire.

Tenir compte de la périodicité des microfilaires (présence dans le sang périphérique):

Wuchereria bancrofti:	nocturne	→ prise de sang vers 2 heures du matin
W. bancrofti var. pacifica:	apériodique	
Brugia malayi:	nocturne	→ prise de sang vers 2 heures du matin
Loa loa:	diurne	→ prise de sang vers 14 heures
Mansonella spp. (non pathogène):	apériodique	

9.3.3. Urine

Recherche de Schistosomes
L'excrétion maximale des oeufs a lieu entre midi et 15 heures. Prélever une portion d'urine à ce moment-là dans un tube stérile de 50 ml et le faire parvenir immédiatement car il est important de savoir si les oeufs sont viables ou non.

9.3.4. Ponctions d'abcès
En cas de suspicion d'abcès amibien du foie, le matériel aspiré devrait être réparti dans **3-4 tubes stériles**. La portion provenant du bord de l'abcès est le meilleur matériel à examiner. Le matériel doit parvenir sans délai au laboratoire. Placer aussi 1 ml de ponction dans un tube contenant de la solution SAF. **Veuillez prendre contact avec le laboratoire avant de ponctionner.**

9.3.5. Biopsies, peau, muscles, moelle osseuse

Les ponctions et biopsies doivent être placées dans **un tube stérile** contenant quelques gouttes d'eau physiologique stérile et être **envoyées immédiatement au laboratoire.**

Les biopsies peuvent aussi être placées dans du formol à 4 % pour l'histologie, dans ce cas les cultures et PCR ne seront plus possibles.

9.3.6. Ectoparasites

Mettre le parasite **à** identifier **dans un tube** de 15 ou 50 ml si possible encore vivant et amener rapidement, sinon ajouter de l'alcool à 70%.

9.3.7. LCR

Faire parvenir sans délai $\geq$ **1 ml** de LCR dans **un tube stérile de 15 ml.** Conserver à température ambiante pour la recherche amibes.

Pour les recherches par PCR ou les examens sérologiques conserver le matériel au réfrigérateur.

9.4. Recherches effectuées en routine de l'IMN

Selles, recherche de protozoaires et helminthes:
1) Examen microscopique direct sans enrichissement.

2) Examen microscopique après **enrichissement** du prélèvement dans le SAF.

Sur demande ou selon les indications cliniques, coloration de Ziehl-Neelsen modifiée pour la recherche de cryptosporidies et autres coccidies.

Sang, recherche de malaria:
1) Examen **microscopique rapide en fluorescence** après coloration à l'acridine orange permettant de détecter la présence de *Plasmodium* spp. par mise en évidence de l'ADN et ARN.

2) Recherche antigénique rapide du *P. falciparum* dans le sang.

3) Examen microscopique après la **coloration de Giemsa** de 2 gouttes épaisses et 2 frottis minces, permettant de détecter la présence de *Plasmodium* spp puis une **différenciation à l'espèce** et finalement une évaluation de la **parasitémie**.

Sang, recherche de microfilaires, de trypanosomes et autres parasites sanguins
Comme pour la malaria mais sans recherche antigénique.

Urine, recherche de Schistosomes
Examen direct après centrifugation ou filtration de l'échantillon.

10. Virologie
10.1. Etiologie virale

Clinique	Virus
Pharyngite/ Faux croup	**Adénovirus** **Influenza** **Parainfluenza** **EBV (MNI)** **RSV** HSV CMV Coxsackie A
Bronchite/ Bronchiolite	**RSV** **Parainfluenza** **Influenza** Adénovirus
Pneumonie	**Adénovirus** **Influenza** **RSV** **Parainfluenza** Entérovirus CMV, EBV, VZV Rougeole
Urétrite/ Cystite aiguë/ Néphropathie	HSV Adénovirus CW Hantavirus
Méningite	**Enterovirus** **HSV**
	Oreillons LCV VZV (CMV, EBV) FSME, Arbovirus
Encéphalite	**HSV** **Oreillons** **Rougeole** **Entérovirus** **HIV** FSME, Arbovirus Rage Fièvres hémorragiques (VZV, EBV, CMV)
Hépatite	Hépatites A, E Hépatites B, C, D, G EBV, CWC Parvo B 19
Diarrhée	**Rotavirus** Adénovirus (40,41) (Astrovirus)
	(Calicivirus)
	(Coronavirus) (Norwalk virus)
Conjonctivite	**Adénovirus** Entérovirus Rougeole Rubéole
Kérato-conjonctivite	**HSV** Adénovirus VZV
Atteintes du nouveau-né	**HSV** **CMV**, VZV HBV HIV Rubéole Parvo B 19
Atteintes génitales	**HSV** **HPV** Adénovirus Molluscum contagiosum
Pleurodynie	**Coxsackie B**
Myocardite/ Péricardite	**Entérovirus** Adénovirus Herpes (groupe)

10.2. Prélèvements par type de virus
En gras les méthodes de diagnostic les plus significatives ou courantes. Voir aussi les annexes pour la sous-traitance.

Virus	Prélèvements	Culture	Détection rapide	Diagnostic moléculaire	Sérologie	Remarques
Adénovirus	Nez, gorge (frottis dans MTV) Oeil (frottis dans MTV)	**oui**	oui		oui	Typage possible
Adénovirus 40,41	Selles fraîches	non	**oui**		non	Agent de diarrhée détectée par latex ou par microscopie électronique
Astrovirus	Selles fraîches	non cultivable			non	Par microscopie électronique.
Calicivirus	Selles fraîches	non cultivable		éventuel,	non	Par microscopie électronique.

Virus	Prélèvements	Culture	Détection rapide	Diagnostic moléculaire	Sérologie	Remarques
Cytomégalovirus (CMV)	Nez, gorge (frottis ou sécrétions) Urine	**oui**	oui		oui	Nouveau-nés: (< 7jours) urine afin d'exclure une infection congénitale. Patients transplantés: surveillance et suivi de la virémie (antigénémie). Immunosupprimés: lors de complications systémiques. Grossesse: présence dans le liquide amniotique.
	Sang EDTA 10 ml		**shell vial**			
	Biopsie	**oui**				
	(LBA)	(oui)		PCR		
	LCR	non	non	**PCR**		
	Liquide amniotique					
Dengue		non	non		**oui**	
Epstein-Barr Virus (EBV)	LCR	non cultivable		**PCR**	oui	Immunosupprimés: atteintes neurologiques, pas de sérologie.
Entérovirus (Coxachie ECMO, Polio)	Gorge (frottis) Selles fraîches Biopsie	oui			possible	Permet de documenter une atteinte particulière en faisant le typage ce qui est plus utile que la sérologie. PCR est plus rapide et sensible mais typage pas possible.
	LCR	possible		**PCR**		
FSME (Arbovirus)		non			**oui**	
Hantavirus		non	non		**oui**	Hantaan et Puumala.
Herpes Simplex Virus (HSV) 1 et 2	Lésion (liquide ou frottis) Biopsie Oeil (frottis)	**oui** **oui** **oui**	oui		oui	Liquide de vésicule ou frotter de manière à prélever des cellules. Sur le LCR il est possible de faire une sérologie en vue de déterminer la production intrathécale.
	LCR	possible		**PCR**	possible	
Hépatites: A, B, C, D, E, F	Sang	non		**PCR**	**oui**	Cf. Ch 7 et 8.
HIV 1 et 2	Sang	non		**PCR**	**oui**	Cf. Ch 7 et 8.
Influenza A et B	Gorge (frottis bien appuyé) ou Sécrétions nasopharyngées LBA	**oui**	oui		oui	Culture permet de documenter une grippe et déterminer le type.
Parainfluenza 1, 2 et 3	cf. Influenza	**oui**			oui	Documentation d'un cas et typage.
Oreillons	LCR Urine, salive	oui			oui	Culture positive dans la phase

Virus	Prélèvements	Culture	Détection rapide	Diagnostic moléculaire	Sérologie	Remarques
						aiguë et début de convalescence utile si pas de parotidite.
Papilloma Virus Humain (HPV)	Frottis gynécologique Biopsie	non cultivable		**Hybridation**	**non**	Cf. Ch 8.
Rougeole		non			**oui**	
Rotavirus	Selles fraîches	non cultivable	**latex**		non	Détection antigénique chez les **< 2ans** ou immunocompromis.
Rubéole	Liquide amniotique	(oui)		**PCR**	oui	Contacter le laboratoire.
Parvovirus B19	Ponctions, Biopsies	non	non	**PCR**	**oui**	
RSV (Virus Respiratoire Syncytial)	Sécrétions nasopharyngées	**oui**	**oui**		oui	Enfants en bas-âge: Mucus-extractor Personnes âgées aussi.
Varicelle et zona (VZV)	Biopsies, vésicules, lésion (frottis) LBA	**oui**	**oui**		oui	Attention: le LCR peut être facilement contaminé par la présence du virus sur la peau!
	LCR	possible		PCR		

10.3. Transport du matériel

Milieu de transport pour virus (MTV).

Ce milieu se conservant **réfrigéré** doit être utilisé seulement **pour la culture virale** à partir des prélèvements suivants: frottis, urine, biopsie, liquide de vésicule, sécrétions nasopharyngées, sécrétions trachéales, LBA, etc afin de préserver la viabilité des virus. (cf. 3.2)

Frottis: Introduire dans le milieu de transport et y laisser l'écouvillon.

Tissus: Introduire et écraser dans le milieu de transport.

Liquides: **Introduire dans** le milieu; pour les grands volumes mettre seulement 1-2 ml

Urines: Verser 2 ml d'urine dans le milieu de transport.

Prélèvements natifs (tube stérile)

Veuillez nous les faire parvenir très rapidement.

Sang: Ne jamais mettre dans un milieu MTV; tube EDTA

LCR: Ne jamais mettre dans un milieu MTV; tube 15 ml stérile

Selles: Ne jamais mettre dans un milieu MTV;Tube FECON (bleu)

Tous: Comprenant d'autres recherches par exemple cultures bactériennes

Ces prélèvements peuvent être gardés à **température ambiante ou réfrigérés.**

Afin de conserver la qualité de la gestion d'un prélèvement précieux, nous vous suggérons de prendre contact avec notre laboratoire avant de faire le prélèvement.

10.4. Détections rapides sur le prélèvement

La culture virale peut se positiver en 1 à 15 jours selon les virus et la quantité présente avec une moyenne de 2-7 jours. Il est donc quelques fois préférable de choisir la détection rapide au moyen de

1. **Tests immunoenzymatiques directement sur le prélèvement** comme **l'immunofluorescence** (IF)**, ELISA, immunoblot ou agglutinations.** Ces tests sont particulièrement intéressants pour la gestion rapide d'un patient ou la surveillance épidémiologique comme cela est le cas pour le RSV, le virus de l'influenza ou le rotavirus. Il permet une réponse le jour même de l'arrivée du prélèvement au laboratoire.

2. **Culture rapide** après 1 jour d'incubation ("**shell vial assay**") elle permet de détecter des protéines spécifiques exprimées par les cellules parasitées par des techniques immunoenzymatiques semblables à la détection antigénique directe.

10.5. Virémie CMV dans le sang (antigénémie)

Ce test est utilisé communément pour la surveillance de patients transplantés. Il se fait par culture rapide, le résultat étant communiqué par téléphone le jour suivant.

- Prélever 2 x 10 ml de **sang EDTA.**

- Garder à température ambiante et faire **parvenir très rapidement** au laboratoire le matin.

- Il est préférable de nous **avertir le jour avant** la prise de sang pour faciliter l'acheminement au laboratoire sous-traitant.

LES ANNEXES 1, 2 et 3 ne sont pas corrigées. GSJ.

ANNEXE 1

Analyses en sous-traitance et adresses des laboratoires mandatés

Cf liste des sous-traitances sur notre site Internet.

ANNEXE 2

Milieux de transports disponibles

A. Tube **de 15 ml stérile (capuchon jaune)**

B. Tube de 50 ml stérile (capuchon bleu)

C. Tube FECON® (capuchon bleu)

D. Tube FECON® + SAF (capuchon jaune)

E. Ecouvillon universel (Transystem® COPAN à capuchon bleu)

F. Ecouvillon Culturette®

G. Ecouvillon souple (Transystem® COPAN à capuchon orange)

H. Ecouvillon souple et milieu au charbon (MTC; Transystem® COPAN à capuchon bleu)

I. Etui Chlamydia IF (BioMérieux)

J. Milieu de Transport Viral (MTV)

K. Etui PCR Coqueluche (NPS-PCR TM)

L. Etui DIGENE (Specimen Collection Kit; HPV)

M. Etui AMPLICOR™ (PCR Chlamydia Gonocoques)

N. BACTEC Aérobie (hémoculture) = routine

O. BACTEC Anaérobie (hémoculture) = routine

P. BACTEC Péds (hémoculture pédiatrie)

Q. BACTEC Mycosis (hémoculture champignons)

R. BACTEC 13A (hémoculture mycobactéries)

S. Tube sérologie (blanc)

T. Tube EDTA (rouge; pour les virémies)

U. Bouillon Urée-Arginine Ri (= BUA Ri pour mycoplasme)

ANNEXE 3

Abréviations	
AB	Antibiogramme
AC (Ac)	Anticorps
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
Aéro	Germes aérobies et microaérophiles
AG (Ag)	Antigène
AIMS	Administration des Institutions Médicales Spécialisées
Ana	Germes anaérobies
ASLO	AntiStreptoLysine O
AST	Analyse Sous-Traitée
BAAR	Bacille Acido-Alcoolo Résistant
BK	Bacille de Koch
BUA	Bouillon Arginine - Urée (Mycoplasmes génitaux)
CFU	Unité formant une colonie (en anglais)
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CML	Concentration Minimale Inhibitrice
CMV	Cytomegalovirus
CNTIA	Centre National des Toxi-Infections Alimentaires (BE)
EBNA	Antigène nucléaire de virus d'Epstein-Barr
EBV	Virus d'Epstein-Barr
EDTA	Acide Ethylène-Diamine-Tétracétique
EHEC (ECEH)	Escherichia coli entérohémorragique
EIEC (ECEI)	Escherichia coli entéroinvasif
ELIFA	Enzyme linked immunofiltration assay (technique de sérologie)
EPEC (ECEP)	Escherichia coli entéropathogène
ETEC (ECET)	Escherichia coli entérotoxinogène
FC	Fixation du Complément (technique de sérologie)
FLHN	Fondation des Laboratoires Hôpitaux Neuchâtelois
FSME	Méningoencéphalite à tiques
FTA	Fluorescent Treponema Antibody
HACEK	hémolytiques/Actinobacillus/Capnocytophaga/Eikenella/Kingella
HCV	Virus de l'hépatite C
HIV	Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)
HPV	Papillomavirus humain
HSV	Virus de l'herpes simplex
I	Intermédiaire
IF	Immunofluorescence (technique de sérologie)
IgA	Immunoglobulines A
IgG	Immunoglobulines G
IgM	Immunoglobulines M
INH	Isoniazide
INM	Institut Neuchâtelois de Microbiologie
ISAGA	Technique de sérologie pour la toxoplasmose
JC	Virus JC
LBA	Lavage BronchoAlvéolaire
LCR	Liquide Céphalo Rachidien
LCR	Ligase Chain Reaction (technique de biologie moléculaire)
MNI	Mononucléose infectieuse
MOTT	Mycobactérie autre que tuberculosis
• MTC	Milieu de Transport au Charbon (coqueluche)
MTV	Milieu de Transport pour Virus
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
Nég	Négatif / Négative

Abréviations	
NSP - PCR TM	Milieu de transport PCR pour prélèvements nasopharyngés
OFAS	Office Fédéral des Assurances Sociales
OFSP	Office Fédéral de la Santé Publique
PCR	Réaction de polymérisation en chaîne
Pos	Positif / Positive
R	Résistant
RPR	Rapid Plasma Reagin (technique de sérologie)
RSV	Virus respiratoire syncitial (VRS)
RT-PCR	Réaction de polymérisation en chaîne avec reverse transcription
S	Sensible
SAF	Acétate de sodium - acide acétique - formol (milieu de transport pour parasites)
SIDA	Syndrome d'ImmunoDéficience Acquise
SPS	Polyanetholsulfonate de sodium
SRNJTS	Service Régional Neuchâtelois et Jurassien de Transfusion Sanguine
TA	Température Ambiante
TPHA	Treponema Pallidum HemAgglutination
UA	Unité arbitraire
UFC	Unité Formant une Colonie
UI	Unité internationale
U/ml	Unité/ml
VCA	Antigène viral de capside
VDRL	Veneral Disease Reference Laboratory (technique de sérologie)
VPN	Valeur Prédictive Négative
VPP	Valeur Prédictive Positive
VRE	Enterocoques résistants à la vancomycine
VTEC	Escherichia coli vérotoxinogène = ETEC
VZV	Virus de la Varicelle / Zoster